



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

Bioznačac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2021.



Pokrovitelj:



ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

21. 5. 2021.

Izdavač

Hrvatsko biološko društvo

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb

URL: <http://www.hbd-sbc.hr/>

E-mail: info@hbd-sbc.hr

SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA



Hrvatsko biološko društvo

ISSN 1849-837X

Uredništvo časopisa Bioznalac

Glavni urednik

Ines Radanović, ines.radanovic@biol.pmf.hr

Operativni urednici

Mirela Sertić Perić, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr

Marina Ništ Marina.Nist@azoo.hr

Žaklin Lukša, zaklinluksa@gmail.com

Recenzenti

Irena Labak, Doroteja Domjanović Horvat, Filip Stević, Andreja Lucić, Siniša Ozimec, Mišo Rašan,

Mirela Sertić Perić, Josip Skejo, Diana Garašić

Web urednik

Renata Horvat, renata.horvat@biol.pmf.hr

Bioznalac je elektronički časopis na web stranici HBD-a
i izlazi najmanje jednom godišnje

SADRŽAJ

Bioznačac 2021.

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	Tihana Marija Majetić Luka Ribić	POKAZATELJI KVALITETE ZRAKA U VIROVITICI	8.	Jasna Razlog-Grlica	OŠ Ivane Brlić-Mažuranić Virovitica	1 - 10
2	Marta Mustać Anđelina Antićev	RAZVOJ BIJELOG LUKA POD UTJECAJEM KUHINJSKE SOLI	8.	Mirica Brekalo	OŠ Petra Preradovića Zadar	11 - 21
3	Viktor Berečki	ŽIVOTINJE ŠUMSKE STELJE	8.	Nataša Kletečki	OŠ Bogumila Tonija Samobor	22 - 29
4	Đurđica Kovačić	UTJECAJ RAZLIČITIH VALNIH DULJINA SVJETLOSTI NA PROIZVODNU KISIKU U KANADSKE VODENE KUGE	2.	Vesna Dobronić	III. gimnazija Split	30 - 39
5	Nika Miličević	ISPITIVANJE VAŽNOSTI RAZMJEŠTAJA SLOVA U RIJEČIMA PRI ČITANJU TEKSTA NA POPULACIJU UČENIKA SREDNJE ŠKOLE	2.	Romana Halapir Franković	V. gimnazija Zagreb	40 - 50
6	Luka Klemen	PROCJENA ŠTETNOG DJELOVANJA UJMJEHTIH ZASLAĐIVAČA NA BAKTERIJU <i>Serratia marcescens</i>	3.	Mirela Zenko Ivić	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga Zagreb	51 - 60
7	Mia Čmrlec	KISIK IZ BILJAKA	1.	Antonija Jančec	Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec	61 - 70
8	Stipe Popović	JEZERSKA VODA	1.	Antonija Jančec	Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec	70 - 77
9	Bruno Trbušić Vito Brozović Maksim Stanković Šprajc	TKO JE VIDEO KRIJESNICE?	8. i 6.	Snježana Marković-Zoraja	OŠ Dubovac Karlovac	78 - 86

POKAZATELJI KVALITETE ZRAKA U VIROVITICI

Tihana Marija Majetić i Luka Ribić, 8. razred

OŠ Ivane Brlić-Mažuranić Virovitica

Mentor: Jasna Razlog-Grlica

SAŽETAK

Cilj rada je procijeniti kvalitetu zraka u središtu grada u blizini prometnica i prikazati stupanj onečišćenja zraka u gradu i predložiti mjere zaštite zraka. Istraživanje je provedeno od svibnja do prosinca 2020. godine. Na deset lokaliteta u središtu grada Virovitice u blizini prometnica prikupljeni su podaci o učestalosti, pokrovnosti steljki i rasprostranjenosti lišajeva na starijim stablima lipa i javora te podaci o broju vozila na sat i količini čestica na površinama u blizini prometnica u gradu. Zabilježeno je sedam svojstava lišajeva među kojima prevladavaju listasti lišajevi (71%). Najviše je zastupljena žuta zdjeličarka, *Xanthoria parietina*. Uz magistralne prometnice gdje je veća frekvencija vozilai manji broj svojstva lišajeva zrak je umjereno onečišćen (3. stupanj čistoće zraka). Nema izraženijih pokazatelja onečišćenja zraka nataloženim česticama iz zraka. Da bi smanjili onečišćenja zraka preporučujemo: češće voziti bicikl ili pješačiti, saditi grmlje i drveće uz prometnice i parkirališta.

Ključne riječi: lišajevi; promet; onečišćenje zraka

UVOD

Područje grada Virovitice obuhvaća prema usvojenoj podjeli u okviru Strategije prostornog uređenja RH dvije krajobrazne jedinice: nizinska područja sjeverne Hrvatske i Bilogorsko-moslavački prostor (Radović, 1999). Bilogora se krajobrazno izdvaja kao šumoviti pojedinci, za razliku od ostalog, poglavito agrarnog krajobraza (slika 1).



Slika 1 Pogled na obronke Bilogore kod Virovitice

Virovitica je značajno prometno, kulturno i županijsko središte. Prema podacima (Mohorovčić, 1986), grad Virovitica razvio se uz potok Ođenicu na prijelazu iz ravničarsko-nizinskih predjela (122 m n.v.) u brežuljkasti dio krajnjih jugoistočnih obronaka Bilogore. Na sjevernoj strani, na udaljenosti od 14 km, teče rijeka Drava i proteže se granica prema Mađarskoj. Svake godine grad se širi i urbaniziraju se nove površine plodne zemlje. Virovitica se smjestila u aluvijalnoj ravnici Podravine, na staništu šuma hrasta lužnjaka i običnog graba. Rauš (1988) opisuje ovu zajednicu kao mješovite šume običnog graba koje se razvijaju na pseudoglejnom ili parapodzolastom tlu, a koje su izvan dohvata poplavnog područja. Tlo šume je ocjedito, ali svježe, slabo kiselo do neutralno. Prema meteorološkim mjerjenjima u Virovitici posljednjih tridesetak godina (Milković, 2000) prosječna godišnja temperatura iznosi $10,5^{\circ}\text{C}$. Najhladniji mjesec u godini najčešće je bio siječanj s temperaturom od $-0,3^{\circ}\text{C}$, a najtoplji srpanj, s temperaturom koja je iznosila $20,5^{\circ}\text{C}$. Apsolutno najniže temperature najčešće se javljaju u siječnju, no podjednako često se mogu javiti i u prosincu i veljači te rjeđe u studenom. Srednja godišnja količina oborina za promatrano razdoblje iznosi 815,5 mm (Milković, 2000).



Lišaj je zajednica koju tvore gljiva i alga. Gljive u ovom stabilnom odnosu mutualizma osiguravaju algama vodu i mineralne tvari, a alge fotosintezom proizvode hranu (Blatarić i Kosec, 2008). S obzirom na veličinu i izgled steljke razlikujemo: koraste lišajeve gdje je donji dio steljke čvrsto pričvršćen za podlogu (kora drveta, stijena), te se ne može odvojiti od podloge, a da se pri tome lišaj ne oštetiti; listaste lišajeve kojima je steljka u obliku lista i djelomično su pričvršćeni za podlogu pa ih je lakše odvojiti i grmaste lišajeve koji imaju grmoliku ili bradoliku steljku koja je često razgranata i slobodno visi s podloge te su stoga vrlo osjetljivi na prisutnost raznih štetnih tvari u zraku (Vujnović, 2013). Lišajevi mogu dulje podnijeti sušno razdoblje te se vrlo brzo oporavljuju kada su ponovno izloženi određenoj količini vlage. Pokrivaju oko 8 % kopnene površine Zemlje i rastu na različitim površinama: stijenama, tlu, kori drveća, umjetnim materijalima i dr. Podnose vrlo velika kolebanja temperature tako da su rasprostranjeni po cijelome svijetu (Vujnović, 2013).

Kako je onečišćenje zraka jedno od gorućih problema suvremene ljudske zajednice, potrebno je pratiti kvalitetu zraka. Lišajevi su osjetljivi na onečišćenje u zraku te su poznati kao bioindikatori onečišćenja zraka (Šoštarec i sur., 1983; Vujnović, 2013; Hrs, 2017). Prema podacima Vujnović (2013) prvo kartiranje lišajeva u urbanom području proveo je 1926. godine Sernander u Stockholm. Područje gradskog središta u kojem nisu prisutni lišajevi nazvao je lišajskom pustinjom (eng. „*lichen desert*“), a područje izvan središta grada u kojem lišajevi rijetko naseljavaju stabla, ali ih ipak ima, nazvao je zonom borbe. Normalna zona obuhvaća područje s izraženom brojnosti i raznolikosti epifitskih lišajeva, daleko od središta grada. Prema podacima Hrsa (2017), biomonitoring kvalitete zraka pomoći lišajeva se pokazuje kao idealna metoda da se bez utroška velikih sredstava prate velika pa čak i nepristupačna područja. Danas se informacije o kvaliteti zraka prikupljaju računajući različite indekse za procjenu kvalitete zraka kao što su indeks atmosferske čistoće (IAP) i indeks raznolikosti lišajeva (ILD).

Članovi smo skupine Mladi biolozi naše škole već drugu godinu. Tijekom rada nastojimo upoznati znanstvene metode istraživanja, učimo se timskom radu i primjenjujemo školska teoretska znanja iz biologije na konkretnim primjerima u gradu. Učenice naše škole su 2000. godine izradile istraživački rad u kojem su popisale lišajeve u Virovitici i na temelju pojavnosti lišajeva odredile zone onečišćenja u gradu (Bušić i Domokuš, 2000). Od tada nije bilo sličnih istraživanja onečišćenja zraka u gradu iako se redovito mjeri koncentracija štetnih plinova na mjernim postajama u gradu.

U zadnjih desetak godina smanjuju se zelene površine i povećava se broj vozila u središtu grada, gdje se nalazi i naša škola. Željeli smo jednostavnim metodama koje smo pronašli u literaturi (Batić, 1980; Šoštarec i sur., 1983; Bušić i Domokuš, 2000; Partl, 2009) istražiti kvalitetu zraka u okolišu škole. Cilj rada je procijeniti kvalitetu zraka u središtu grada i utvrditi brojnost i pokrovnost lišajeva u frekventnijim područjima grada te pridonijeti razvijanju svijesti građana o očuvanju kvalitete zraka. Specifični ciljevi rada su: odrediti kvalitetu zraka primjenom metode brojanja steljki, istražiti zastupljenost indikatorskih svojstava lišajeva u središtu grada, odrediti frekvenciju prometa brojanjem vozila u središtu grada i prikupiti podatke o količini čestica u zraku te predložiti mjere zaštite zraka.

Istraživačka pitanja su: Razlikuje li se kvaliteta zraka u različitim područjima središta grada uz prometnice? Kakva je rasprostranjenost lišajeva u frekventnijim područjima grada?

Pretpostavili smo: Uz frekventnije prometnice veće je onečišćenje zraka i manji je broj svojstava lišajeva, a prevladavaju listasti lišajevi.



METODE

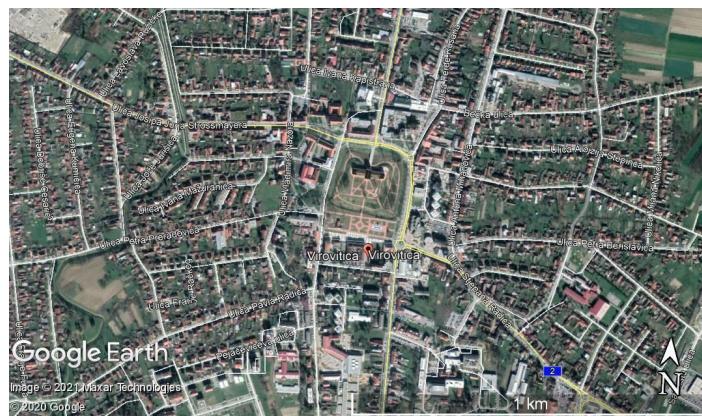
Istraživanje je provedeno od svibnja do prosinca 2020. godine. Prvo je odabrana tema istraživačkog projekta, a zatim je proučena literatura. Do početka listopada 2020. godine načinjen je plan istraživanja i pristupljeno je istraživanje koje je provedeno u više etapa tijekom listopada i studenog 2020. godine. Prvo je odabran područje istraživanja, zatim su prikupljeni podaci na izabranim lokalitetima o učestalosti lišajeva i pokrovnosti na stablima te podaci o broju vozila na sat i količini čestica na površinama u blizini prometnica u gradu. Nakon toga su prema zabilježenim pokazateljima na karti grada Virovitici određene zone onečišćenja zraka i izrađen prijedlog mjera zaštite zraka.

Opis istraživačkog područja

Istraživano područje grada Virovitice ograničeno je na područje dva kvadrata HTRS 1X1 km na Google Earth-u (slika 2) i zemljovidu geoportala iz FCD baze za floru Hrvatske (Nikolić, 2015). Tijekom obilaska područja zabilježen je položaj pomoću GPS prijemnika starijih stabala lipa, javora i jasena na deset lokaliteta (tablica 1) na kojima su promatrani lišajevi i provedeno je mjerjenje frekvencije prometa. Položaj točaka je provjeren na Google Earth-u.

Tablica 1 Prikaz lokaliteta na istraživačkom području središta grada Virovitice

Naziv lokaliteta	Oznaka lokaliteta	Opis lokaliteta	Geografski položaj
Matije Gupca - sjever	L1	Nalazi se u centru gdje se križaju magistralna i lokalne prometnice, stabla javora	45°50'10.86"S 17°23'8.88"E
Igralište Borac - sjeverozapad	L2	Nalazi se u sjeverozapadnom dijelu grada uz veće zelene površine i igrališta, stabla lipa	45°50'18.79"S 17°22'59.85"E
Crkva – grad - sjeverozapad	L3	Nalazi se u centru kod crkve gdje se križaju magistralna i lokalne prometnice, stabla javora	45°50'4.30"S 17°23'1.04"E
Gradski park - zapad	L4	Nalazi se uz parkirališta, veću zelenu površinu i obnovljeni dio Gradskog parka, stabla lipa	45°49'59.63"S 17°23'1.52"E
Vrtić - zapad	L5	Nalazi se uz zelene površine, zgrade i lokalne gradske prometnice, stabla javora	45°49'45.40"S 17°23'57.46"E
Krug bolnice - jug	L6	Nalazi se uz parkiralište u krugu bolnice, nema zelenih površina, no ni većeg prometa, stabla lipa	45°49'44.53"S 17°23'16.18"E
Željeznički kolodvor - jugistok	L7	Nalazi se uz magistralnu prometnicu, gdje ima malo zelenih površina, stabla javora	45°49'40.07"S 17°23'40.25"E
Mali park – istok	L8	Nalazi se u blizini magistralne ceste i bolnice, obnovljenidrvoredi u parku, stabla lipa	45°49'49.30"S 17°23'26.04"E
Okoliš škole -sjeveroistok	L9	Nalazi se na području školskog parkirališta, uz cestu i dječje igralište, stabla javora	45°49'54.42"S 17°23'34.31"E
Gradski park - istok	L10	Nalazi se uz prometnicu i središte grada, uz drvored obnovljenog parka, stabla lipa	45°49'58.35"S 17°23'11.82"E



Slika 2 Područje istraživanja – karta grada Virovitice (izvor: Google Earth, 2020)



Tijekom obilaska područja prikupljeni su podaci o lokalitetu (opis staništa, smjer vjetra, izvori onečišćenja i topografija područja) prema uputama u Priručniku za inventarizaciju i praćenje stanja lišajeva (Partl, 2009). Zbog lakšeg snalaženja lokaliteti su opisani (tablica 1) prema blizini poznatih objekata i označeni rednim brojem prema njihovom geografskom položaju u gradu (stranama svijeta). Najmanja udaljenost između dva lokaliteta bila je 500 metara. Načinjene su fotografije staništa i vrsta.

Određivanje frekvencije vozila u gradu

Tijekom listopada i studenog 2020. godine određen je broj vozila na frekventnim prometnicama u središtu grada, u dva intervala – radnim danom (ujutro kada građani idu na posao i popodne, u sat vremena, tijekom ponedjeljka i četvrtka) i neradnim danom (tijekom nedjelje od 9-10 sati). Izračunata je srednja vrijednost (broj vozila na sat) i dobiven prosječan broj vozila na sat za istraživani period (za radne dane i neradne dane).

Metoda određivanja količine sedimenta na betonskim i staklenim plohamama pomoću ljepljive trake

Na određenim površinama koje su bile zaklonjene i pod utjecajem onečišćivača (vozila, lebdeće čestice u zraku nastale loženjem i dijelovi biljaka) pomoću ljepljive trake prikupljeni su uzroci i obrađeni podaci o količini čestica (sedimenta) na betonskim i staklenim površinama.

Određivanje indeksa atmosferske čistoće (IAP-a)

Na odabranim starijim stablima lipe i javora čija je kora lagano kisela popisani su tipovi steljki na tri visine: visina 1 na dnu stabla do 0,5 m, visina 2 u visini prsa do 1,5 m i visina 3 krošnja visina iznad 2,5 m koje su razdijeljene na zamišljene kvadrate odgovarajućih stranica radi lakše procjene. Kod promatranja u krošnjama korišten je dalekozor.

Određena je brojnost pojedinih tipova steljki (a) i pokrovnost stabala (c) trima osnovnim tipovima steljki lišajeva; korastim (C), listastim (F) i grmastim (R).

Brojnost steljki (a) je određena prema skali od 0 do 3 na sljedeći način:

- 0 ako nije bilo lišajeva
- 1 ako je bilo 1 do 5 steljki na promatranoj površini
- 2 ako je bilo 5 do 10 steljki na promatranoj površini
- 3 ako je više od 10 steljki na promatranoj površini.

Pokrovnost steljki (c) je određena prema skali od 0 do 3 na sljedeći način:

- 0 ako nije bilo lišajeva
- 1 ako pojedini tip steljke lišajeva prekriva do 10% promatranog debla
- 2 ako pojedini tip steljke lišajeva prekriva od 10% do 50% promatranog debla
- 3 ako pojedini tip steljke lišajeva prekriva od 50% do 100% promatranog debla.

Za svaku visinu izračunati su indeksi atmosferske čistoće ili indeks čistoće zraka (Batić, 1980) i to:

IAP1 za stanje na dnu stabla, IAP2 za stanje na deblu u visini prsa i IAP3 za stanje u krošnji prema formuli:

$$IAP1 = C(a+c)+F(a+c)+R(a+c)$$

$$IAP2 = C(a+c)+F(a+c)+R(a+c)$$

$$IAP3 = C(a+c)+F(a+c)+R(a+c)$$

Pojedinačni indeksi su zbrojeni i dobiven je indeks za promatrano mjesto IAPt

$$IAPt=IAP1+IAP2+IAP3$$



Vrijednosti se mogu kretati za pojedinačne indekse od 0 do 18, a za indeks atmosferske čistoće za promatrano mjesto od 0 do 54. Što je vrijednost indeksa niža, znači da je lišajska vegetacija siromašnija brojem jedinki i zrak više onečišćen.

Radi lakše usporedbe vrijednosti IAP-a za svaku visinu i indeks za promatrano mjesto IAPt-a podijeljena su u pet razreda onečišćenja to su:

Razred	IAP	Vrijednost IAPt
5 (jako onečišćen zrak)	0	0
4	1-4,5	1-13,5
3	4,6-9,0	13,6-27,0
2	9,1-13,5	27,1-40,5
1 (čisti zrak)	13,6-18,0	40,6-54

Sakupljanje, obrada i determinacija lišajskog materijala

Epifitski lišajevi na istraživanom području sakupljeni su pri terenskim istraživanjima, provedenima od 1. 10. 2020. do 30. 11. 2020. godine (deset izlazaka na teren). Lišajevi su sakupljeni s kore stabala i grana drveća do visine 2,5 m iznad tla. Za skidanje većih lisnatih lišajeva korišten je nož. Sakupljeni materijal spremljen je u vrećice na kojima su zabilježeni terenski podaci, a svi relevantni podaci bilježeni su u terenski inventarizacijski listić. Oblik i vanjska obilježja lišajskih steljki, bitnih za determinaciju, promatrani su u laboratoriju pomoću binokularne luke s povećanjem 10x–40x. Suhu materijal prije promatranja je kratko nakvašen destiliranom vodom kako bi talusi bili rehidrirani. Za determinaciju lišajeva korišteni su priručnici (Partl, 2009) i ključ za lišajeve na web stranici s fotografijama lišajeva <http://italic.units.it/index.php?procedure=idkeys>.

REZULTATI

Na istraživanim lokalitetima prikupljeni su podaci i izvršena je njihova obrada i analiza.

Rezultati istraživanja lišajeva u gradu

Na istraživanom području središta grada zabilježeno je sedam svojstvi lišajeva. U popisu lišajeva su navedeni abecednim redom rodova (tablica 2). Uz naziv svojstva su navedeni lokaliteti (vidi tablicu 1) gdje su zabilježeni.

Tablica 2 Prikaz lišajeva Virovitice na istraživanim lokalitetima (stablima) u 2020. godini

Naziv lišaja	Tip steljke	Lokaliteti na kojima su zabilježeni
<i>Evernia prunastri</i> (L.) Ach.	grmoliki	L5
<i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl.	listasti	L1, L4, L5, L6, L7, L9, L10
<i>Lepraria</i> sp.	korasti	L4, L5, L6
<i>Parmelina tiliacea</i> (Hoffm.)	listasti	L2, L8
<i>Physcia</i> sp.	listasti	L1, L2, L6, L7, L8, L9, L10
<i>Parmelia sulcata</i> Taylor	listasti	L1, L2, L4, L5, L6, L8, L9, L10
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th. Fr.	listasti	L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10

Najčešći lišaj je žuta zdjeličarka, *Xanthoria parietina* zabilježen u svim dijelovima grada. Raste i na novoposađenim stablima u središtu grada u Gradskom parku (slika 3) kao i na starijim stablima uz prometnice (slika 4). Podnosi veće onečišćenje zraka.



Slika 3 Žuta zdjeličarka na novozasađenim stablima



Slika 4 Žuta zdjeličarka obrasta stabla uz prometnicu

Samо на dva lokaliteta u zapadnom dijelu gradu gdje prema zabilježenim podacima promet nije bio tako gust, a ima više zelenih površina sa starijim stablima zabilježen je grmast hrastov lišaj *Evernia prunastri* (slika 5).

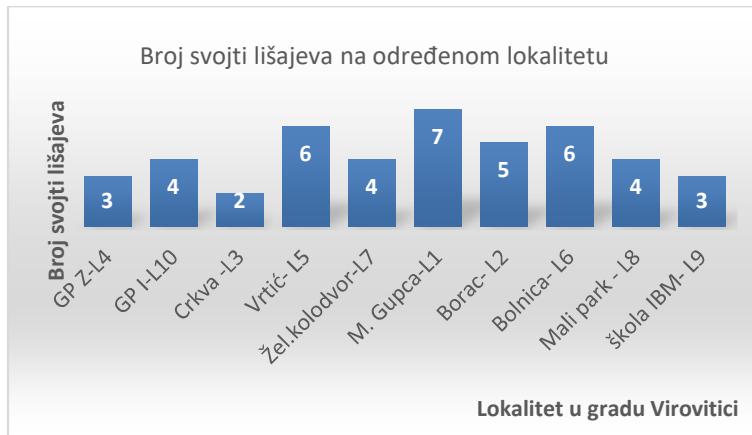
Slika 5 Grmasti lišaj *Evernia prunastri* u zapadnom dijelu grada

Među zabilježenim svojtama prevladavaju listasti lišajevi. Veća je raznolikost svojti u zapadnom dijelu grada (slika 6).



Slika 6 Uzorci lišajeva s lokaliteta L5 kraj vrtića gdje nije tako intenzivan promet

Prosječan broj svojti je 3-4 svojti po lokalitetu (slika 7). Minimalan broj lišajeva po stablu bio je dva, a maksimalni sedam.



Slika 7 Usporedba broja svojti na istraživanim lokalitetima u gradu

Najmanji broj svojti zabilježen je središtu grada uz prometnicu na križanju magistralne ceste smjer Zagreb-Osijek i lokalnih cesta u blizini škole ili trgovačkih centara.

Rezultati procjene kvalitete zraka brojanjem steljki - određivanjem Indeksa atmosferske čistoće (IAPt)

U radni listić, za svaki od deset lokaliteta, upisivani su podaci o opsegu stabla, položaju i vrste i procijenjena je učestalost i pokrovnost steljki lišajeva. Nakon toga su izračunati indeksi atmosferske čistoće (tablica 3) na tri visine (IAP1, IAP2 i IAP3) i ukupni indeks atmosferske čistoće (IAPt).

Tablica 3 Prikaz indeksa atmosferske čistoće (IAP) na području grada Virovitice

Vrijednosti Indeks atmosferske čistoće Lokalitet	IAP1 (do 0,5 m visine)	stupanj čistoće zraka	IAP2 do 2,5 m visine)	stupanj čistoće zraka	IAP3 Preko 2,5 m visine)	stupanj čistoće zraka	IAPt (ukupno)	stupanj čistoće zraka
Ul. Matije Gupca- javor (L1)	9	3	11	2	3	4	23	3
Borčeve igralište-lipa (L2)	9	3	9	3	4	4	22	3
Zelena površina kraj crkve- javor (L3)	4	4	4	4	0	5	8	4
Gradski park, zapad-lipa (L4)	8	3	8	3	2	4	18	3
Zapad kraj vrtića- javor (L5)	10	2	12	2	8	3	30	2
Područje u krugu bolnice- lipa (L6)	8	3	8	3	7	3	23	3
Željeznički kolodvor-javor (L7)	3	4	6	4	6	3	15	3
Mali park- lipa (L8)	8	3	8	3	4	4	20	3
Okoliš škole-javor (L9)	6	3	4	4	4	4	17	3
Gradski park, istok-lipa (L10)	10	2	5	4	4	4	19	3



Vidljivo je da je nema veće razlike između pojedinih dijelova grada, ali da se razlikuje IAP u odnosu na visine. U višim dijelovima atmosfere zrak je više onečišćen, jer je manja raznolikost i pokrovnost lišajeva (kreće se čak do 5. stupnja).



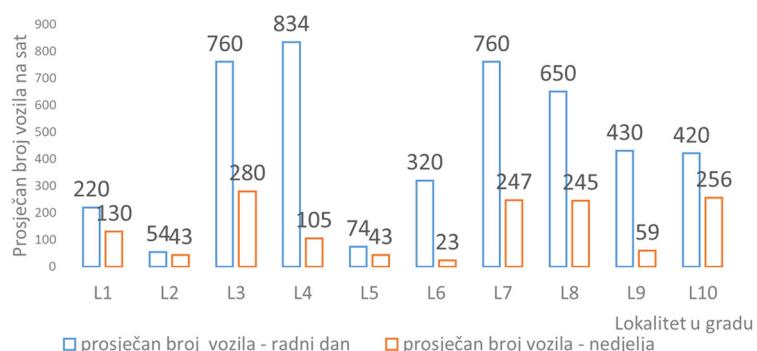
Slika 8 Prikaz vrijednosti IAPt na lokalitetima u istraživanom području grada Virovitice (zelena točka – lokalitet L5 s drugim stupnjem čistoće zraka, žute točke – lokaliteti s trećim stupnjem čistoće zraka, a crvena točka – lokalitet L3 s četvrtim stupnjem čistoće zraka)

Možemo uočiti da je područje grada Virovitice treći stupanj onečišćenja (slika 8). Izdvajaju se dva manja područja: na zapadu gdje je zrak čišći i u središtu grada na sjeverozapadnom dijelu gdje tijekom dana prođe najveći broj vozila.

Rezultati istraživanja ostalih pokazatelja kvaliteta zraka

Brojenje vozila provedeno tijekom listopada i studenog 2020. godine na istraživanim lokalitetima u dva navrata tijekom sat vremena u tri dana u tjednu (ponedjeljak, četvrtak i nedjelje). Istaknute su i prikazane prosječne vrijednosti broja vozila samo za one dijelove grada (lokalitete) gdje je promet bio najintenzivniji i samim time imao veći utjecaj na kvalitetu zraka (tablica 3).

Prikazan je prosječan broj vozila na svim lokalitetima (slika 9), u dva navrata (radnim danom i nedjeljom).

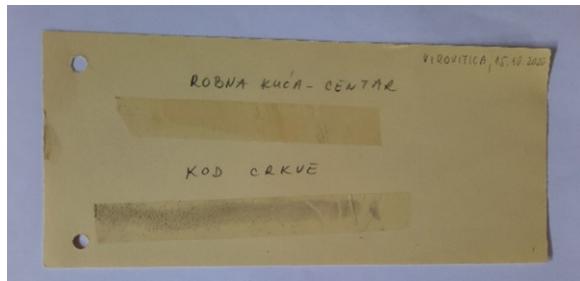


Slika 9. Usporedba prosječnog vozila na sat na istraživanim lokalitetima u Virovitici

Vidljivo je da je više izražena razlika u broju vozila radnim danom i nedjeljom na lokalitetima koji nisu u blizini magistralne ceste koja prolazi kroz grad. U samom središtu grada gdje svakim danom prolaze brojna vozila broj vozila na sat kreće se od 1650 do 748 vozila na sat radnim danom i 280 vozila na sat neradnim danom, što upućuje na vrlo intenzivan promet u središtu grada, pogotovo radnim danima.



Na odabranim površinama (staklene/betonske na jednom objektu) lijepljenjem sejotejp-traka utvrđena je manja količina sitnih čestica prašine i većih zrnaca (veličine kristala kuhinjskog šećera) čađe, te dijelova biljaka.



Slika 10. Uzorak čestica s površina u gradu

Češće su se pojavljivale veće količine sedimenta tamo gdje je bio intenzivniji promet i ljeti kada je smjer vjetra bio jugozapad-sjeveroistok.

RASPRAVA

Biomonitoring indikatorskih svojstava lišajeva pokazuje se kao idealna metoda za određivanje kvalitete zraka jer se bez utroška velikih sredstava nadgledaju velika pa čak i nepristupačna područja (Vujanović, 2013). U Sloveniji su uključili učenike u biomonitoring (Batić, 1980), no problem je bilo poznavanje svojstava lišajeva. To se i u našem radu pokazalo kao problem koji smo svladali nakon određenog truda. Metoda brojanje streljki je stoga primjerenija metoda za učenike, pogotovo u osnovnoj školi. Biomonitoring lišajeva provodi se u Hrvatskoj (Hrs, 2017; Vujnović, 2013), a načinjena je i inventarizacija raznolikosti lišajeva Hrvatske kao jedinstvena prostorna baza podataka za sve nalaze lišajeva na području Republike Hrvatske od 1802. do 2018. godine (Mehmedović, 2019). Istraženo je stanje kvalitete zraka u Slatini (Prlić i Ozimec, 2013) i popis lišajeva (Prlić, 2015) gdje se navodi 76 svojstava lišajeva ne samo u gradu nego i u okolnim šumama. Analiza rasprostranjenosti lišajeva ukazuje da je zrak u gradu umjeren do vrlo onečišćen (3. do 4. zona onečišćenja) dok je u Slatini zabilježeno manje onečišćenja zraka. Tijekom istraživanja lišajeva 2000. godine (Domoković i Bušić, 2000) zabilježeno je 13 svojstava među kojima se navodi i sedam svojstava koje smo mi zabilježili. Smatramo da u Virovitici ima još nezabilježenih svojstava jer lišajevi nismo promatrali lišajeve na kamenju, ogradama i drugim površinama. Osim toga potrebno bi bilo proširiti područje istraživanja na okolne šume na Bilogori.

Indeksi atmosferske čistoće pokazuju da se kvaliteta zraka u različitim dijelovima grada kreće od 2. do 4. stupnja onečišćenja, a prevladava 3. stupanj onečišćenja. Veće je onečišćenje zraka u blizini prometnica na visini do 2,5 metara. Podaci o utjecaju kakvoće prometa na onečišćenje zraka u Virovitici zabilježeni za 2002. godinu (Karlović i sur., 2002) ukazuju da je već tada promet u gradu bio glavni izvor onečišćenja zraka. Mjerna postaja određivanja lebdećih čestica koju je postavio Zavod za javno zdravstvo „Sv. Rok“ Virovitica nije više u funkciji od 2001. godine jer kako kažu ne postoji potreba za praćenjem kvalitete zraka (Virovitičko-podravska županija, 2017). Naš rad pokazuje da postoji potreba za dodatnim mjerjenjima kvalitete zraka u Virovitici, pa ćemo naše rezultate predočiti odgovornim stručnjacima i ustanovama u gradu.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata rada proizlaze sljedeći zaključci:



- ↙ u središtu grada uz prometnice nema izraženije razlike u kvaliteti zraka. Prevladava 3. stupanj čistoće zraka, umjereni onečišćen zrak, dok je zrak čišći u zapadnom dijelu grada gdje nije tako intenzivan promet i gdje rastu grmasti lišajevi.
- ↙ zabilježeno je sedam svojti lišajeva. Prevladavaju listasti lišajeve (71%) od kojih je najviše zastupljena *Xanthoria parietina* – žuta zdjeličarka koja podnosi veće onečišćenje zraka. Uz magistralnu prometnicu zabilježen je manji broj svojti lišajeva. Nema izraženijih razlika u nataloženim česticama iz zraka.

Potvrdili smo svoju pretpostavku. Metode brojenja vozila i određivanja količine čestica na površinama ukazuju samo na trenutno stanje. Preporučili bismo provođenje metode brojanja steljke lišajeva. Zrak je u našem gradu danas malo više onečišćen u središtu grada nego 2000. godine, vjerojatno zbog povećanja broja vozila.

Prijedlog mjera zaštite:

- ↙ ići više pješice ili biciklom,
- ↙ poticati građane da koriste obilaznicu,
- ↙ saditi više grmlje i drveće uz prometnice i parkirališta koje su otpornije na onečišćenje zraka.

LITERATURA

- Batič F. 1980. Osnaženje zraka in lišaji. *Proteus* 9/10, str.318-321.
- Blatarić Z., Kosec I. 2008. Biološki leksikon. Alfa. Zagreb. str. 142.-143.
- Bušić I., Domokos N. 2000: Vrednovanje kvalitete zraka u okolišu škole. OŠ Ivane Brlić-Mažuranić Virovitica, istraživački rad za natjecanje iz biologije.
- Google Earth 2020. <https://www.google.com>, pristupljeno rujan 2020. godine
- Hrs L. 2017. Biomonitoring kvalitete zraka pomoću lišajeva. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet; Zagreb (seminarski rad).
- ITALIC 2019. ITALIC The Information System on Italian Lichens, <http://italic.units.it/index.php?procedure=idkeys>, pristupljeno listopad 2020.
- Karlović Z., Tomljanović Ž., Špehar M., Razlog-Grlica J. 2002. Utjecaj cestovnog prometa na kakvoću zraka u Virovitici. Savjetovanje Promet i okoliš, Zagreb. (izlaganje)
- Milković J. 2000. Klima Virovitice. Plavi mramor 2, OŠ Vladimira Nazora Virovitica, Virovitica, 14-17.
- Mehmedović A. 2019: Inventarizacija raznolikosti lišajeva Hrvatske. Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet Biološki odsjek. Zagreb.
- Mohorovičić A. 1986. Kulturno-povjesno značenje Virovitice. Virovitički zbornik (1234-1984) ed. A. Mohorovičić, Jugoslav. Akad. Znan.i umjet., Skupština općine Virovitica, str.345-351.
- Nikolić T. (ur.) (2015): Flora Croatica baza podataka / Flora Croatica Database, on-line URL: <http://hirc.botanic.hr/hr/fcd/>. Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, pristupljeno rujan 2020.
- Partl A. 2009. Lišajevi-priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Prlić D., Ozimec S 2013. Primjena lihenoloških istraživanja u procjeni kakvoće zraka na području grada Slatine. Zbornik radova 14. Ružičkini dani, Danas znanost-sutra industrija, Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehologa (HDKI), Zagreb, 374-385.
- Prlić, 2015. Prirodni svijet Slatine i okolice, Lišajevi, <http://www.slatina-nature.com/lisajevi/>, pristupljeno veljača 2021
- Radović J. 1999. Pregled stanja biološke i krajobrazne raznolikosti Hrvatske sa strategijom i akcijskim planovima zaštite. Državna uprava za zaštitu prirode i okoliša, Zagreb, str.41-47.
- Rauš Đ. 1988. Zelenilo bjelovarskog kraja. Prosvjeta. Bjelovar.
- Šoštarec V., Sobol V., Vranješ Ž., Razlog J. 1983. Određivanje zagađenosti zraka u Kutini kartiranjem epifitskih lišajeva, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Virovitičko-podravska županija 2017. Program zaštite zraka, ozonskog sloja, ublažavanje klimatskih promjena i prilagodbe klimatskim promjenama u Virovitičko-podravskoj županiji za razdoblje 2017-2021, Virovitica. <http://www.vpz.com.hr/wp-content/uploads/2013/10/IZVJEŠCE-O-KVALITETI-ZRAKA.pdf>, pristupljeno, studeni 2020.
- Vujnović M. 2013. Epifitski lišajevi na dendroflori sveučilišnog kampusa u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju. diplomski rad.



RAZVOJ BIJELOG LUKA POD UTJECAJEM KUHINJSKE SOLI

Marta Mustać i Andelina Antićev, 8. razred

Osnovna škola Petra Preradovića, Zadar

Mentor: Mirica Brekalo

SAŽETAK

Kuhinjska sol je začin koji se u svakodnevnom životu koristi vrlo često većim količinama nego što je potrebno. Htjeli smo provjeriti koliko soli djeca unose u svoj organizam. Kako bi se provjerilo zapažanje koliko kuhinjske soli djeca unose u svoj organizam, provedena je anketa na uzorku od 80 učenika (5. - 8. raz.). Istraživanjem sastava pojedinih prehrambenih proizvoda (10) utvrđena je velika količina kuhinjske soli u odnosu na naše dnevne potrebe. U istraživanju su se koristili režnjevi bijelog luka kako bi se utvrdio utjecaj kuhinjske soli na klijavost, rast stabljike, listova, raspored kloroplasta, puči i duljinu korijena, s pretpostavkom da će manja količina kuhinjske soli imati manji ili neutralni utjecaj, a da će veća količina djelovati negativno na rast i razvoj. Bijeli luk (60 režnjeva) posađen je u 6 posuda i zalijevan svaka 4 dana. Korištene su otopine: voda i 0,25 g kuhinjske soli (za 2 posude), voda i 0,5 g kuhinjske soli (za 2 posude), te voda kao kontrolna skupina (za 2 posude). Na temelju podataka došlo se do rezultata da bijeli luk zalijevan otopinom 3 ima najmanju promjenu u broju listova (6), u visini stabljike (67 cm), duljini listova (19,87 cm), listovi su požutjeli, kloroplasti su neravnomjerno raspoređene, a puči su nepravilno raspoređene i nejednake veličine. Duljina korijena bila je najmanja kod bijelog luka koji je zalijevan otopinom 3 (17 cm). Na temelju rezultata, zaključujemo da veća količina kuhinjske soli negativno utječe na rast bijelog luka, smanjuje postotak klijavosti, veličinu stabljike, duljinu korijena, broj listova, boju listova, neravnomjeran raspored kloroplasta i puči.

Ključne riječi: *otopine, kloroplasti, puči.*

UVOD

U svojoj prehrani čovjek koristi različite začine koji u većoj količini mogu biti štetni za ljudsko zdravlje. Jedan od začina koji se svakodnevno koristi je kuhinjska sol. Primijetili smo da djeca u svojoj prehrani koriste više kuhinjske soli, što je potaklo zanimanje za istraživanje. Kako bi činjenica da djeca koriste velike količine kuhinjske soli u prehrani bila dokazana, provedena je kratka anketa na uzorku od 80 učenika osnovne škole. Kako bi saznali koliko pojedini prehrambeni proizvodi sadrže kuhinjske soli, istražile smo sastav od 10 proizvoda koji se često koriste u prehrani. Kuhinjska sol utječe na zdravlje kod ljudi, ali kakva je uloga kod drugih organizama? To nas je potaklo da istražimo kako određene količine kuhinjske soli (0,25 g, 0,5 g) utječu na rast i razvoj bijelog luka. Bijeli luk ima visoku nutritivnu vrijednost jer sadrži vodu, bjelančevine, masti, ugljikohidrate, vlakna i minerale: natrij, kalij, magnezij, kalcij, fosfor, sumpor i željezo. Tvari koje se nalaze u bijelom luku su: karoten, vitamin E, B1, B2, B3 i vitamin C. Glavnu zdravstvenu vrijednost daje mu biljni antibiotik – alicin (Žigić, 2009). Sadi se u jesen ili rano proljeće. Na stabljici se razvija 6 – 8 listova koji mogu narasti 40 – 50 cm. Listovi su dugi i plosnati. Lukovica je sastavljena od 10 – 20 češnjeva (Tomić, 1970).

Kuhinjska sol ili natrijev klorid je spoj koji naš organizam treba u točno određenim količinama. Preporuča se da unos kuhinjske soli bude manji od 5 g dnevno, što je jedna čajna žličica. Oba iona natrija i klora, neophodni su za čitav niz osnovnih metaboličkih procesa u našem organizmu. Natrij predstavlja pozitivno nabijen ion (cation) u izvanstaničnoj tekućini, dok klor predstavlja negativno nabijen ion (anion). Ovi su ioni, zajedno s ionima kalija i bikarbonata, neophodni za transport preko stanične membrane, čime se stanica zapravo hrani, obnavlja i izbacuje iz sebe štetne tvari. Nadalje, natrij je neophodan za izmjenu iona vodika i izlučivanje vode; na taj način osigurava se acidobazna ravnoteža organizma. Pored toga, natrij ulazi u čitav niz mehanizama koji rezultiraju podražljivošću živčanog i mišićnog tkiva. Klor sudjeluje u velikoj mjeri u osnovnim biokemijskim procesima, a jedna od



najvažnijih uloga klorova ostvaruje se u procesu probave. Sol nema nikakve energetske vrijednosti (Verbanac, 2019).

Svake zime zamrznuti ili snijegom zametnuti dijelovi ulica i cesta posipaju se ogromnim količinama soli. U osnovi riječ je o najobičnijem natrijevom kloridu, poput kuhinjske soli, ali s nekoliko kemijskih dodataka pomoći kojih je takva sol djelotvornija u snižavanju temperature taljenja, odnosno otapanja snijega i leda. Taj postupak doista funkcioniра, no malo ljudi zna za posljedice i štete koje stvara ta praksa posipanja ulica solju. Sol šteti stablima i biljkama, a nakon što se s ulica ispere, sve te ogromne količine soli odlaze u tlo, u najgorim slučajevima i u podzemne vodene tokove (Županić, 2017). Visok salinitet ima negativan utjecaj na biljku jer otežava primanje vode korijenom, a ion soli djeluju toksično u visokim koncentracijama. Visoka koncentracija otopljenih soli u vodi, snižava vodni potencijal tla, čime ugrožava rast biljke (Rimac, 2005). Vodni potencijal jest slobodna energija po jedinici volumena vode u otopini u odnosu na standardno stanje. Što je veća koncentracija vode, a manja koncentracija otopljenih tvari, veći je vodni potencijal. Marić (2016) se bavi problemom kako industrijska sol utječe na ionski sastav tla u neposrednoj blizini Sljemenske ceste i da je posipanje prometnice utjecalo na veću količinu klorida (Cl) i natrija (Na) u tlu. Otapanjem leda, natrij s vodom dospijeva u tlo koje postaje manje sipko, a supstrati tla zadržavaju manje vlage i manje hranjivih tvari. Biljke dobivaju manje vode. Analiza tkiva lišća drveća otkriva kako zasolvavanje tla povisuje sadržaj natrija i klorida u tkivu lišća, nastaju oštećenja lišća i iglica, promjene u boji kloroplasta i puči, odumiranja grančica, deformacije, smanjenje rasta.

Kuhinjska sol može uništiti plodnost tla, pa ni u jednom biovrtu sol nije dobrodošla niti u vrlo malim količinama (Kolar-Fodor, 2018). Soli iz sintetskih gnojiva velik su problem koji dugoročno uništava plodnost tla. Sol uzrokuje svjetski problem saliniteta čak i iz sustava navodnjavanja sa slatkom vodom. Zaslanjivanje tla, naime, događa se jer svaka kopnena voda sadrži otopljenе soli (kalcijske, magnezijeve, kalijeve i natrijeve sulfate, karbonate i kloride), pa se tako intenzivnim navodnjavanjem uz vodu u tlo dodaju velike količine soli koje tijekom godina čine tlo sve manje plodnim, a na kraju i potpuno neplodnim (Rimac, 2005). Podatci o djelovanju kuhinjske soli na tlo i na drveće potaknuli su na istraživanje utjecaja određene količine kuhinjske soli na rast, razvoj biljnih organa (korijen, stabljika, list) kod bijelog luka, boju listova te na brojnost kloroplasta i puči. U studenom 2020. godine započelo je istraživanje utjecaja kuhinjske soli i vode na rast i razvoj bijelog luka.

Ciljevi istraživanja bili su: istražiti udio ispitanika koji troše više od 5 g kuhinjske soli, istražiti udio ispitanika koji čitaju sastav prehrambenih proizvoda koje koriste u prehrani i koliko to utječe na njihov odabir hrane, istražiti udio kuhinjske soli u sastavu često korištenih prehrambenih proizvoda (10), učenike smo pitali koje prehrambene proizvode najviše koriste i iz njih iščitali njihov sastav, istražiti utjecaj različitih otopina kuhinjske soli na: kljajost bijelog luka, visinu stabljike, broj, duljinu i boju listova, raspored i brojnost kloroplasta i puči, usporediti i izmjeriti dužinu korijena kod uzgojenih biljaka bijelog luka. Pretpostavlja se da će učenici 8. i 7. razreda manje trošiti kuhinjske soli u prehrani, da će češće čitati sastav prehrambenih proizvoda u odnosu na učenike 5. i 6. razreda. To pretpostavljamo jer bi stariji učenici trebali biti odgovorniji za njihovo zdravlje i prehranu. Pretpostavlja se da prehrambeni proizvodi sadrže veliku količinu kuhinjske soli u odnosu na naši dnevni unos. Temeljem proučavanja literature postavljena je hipoteza da će bijeli luk najbolji rast i razvoj imati pod utjecajem manje količine kuhinjske soli. Kako će veće razlike biti između uzgojenih biljaka s većom količinom kuhinjske soli u odnosu na biljke s manjom količinom kuhinjske soli nego razlike između kontrolne



skupine i biljke uzgojene sa manjom količinom soli. Pod najboljim razvojem biljke smatra se najviša stabljika, najveća duljina listova, tamnija zelena boja, veća gustoća kloroplasta i puči i najbolja razvijenost korijena. Pretpostavljamo kako se biljke pod utjecajem veće količine soli neće dugo razvijati. Dobiveni rezultati mogli bi potaknuti učenike da smanje potrošnju soli u svojoj prehrani i da redovito čitaju sastav proizvoda koji koriste u prehrani. Ljudi bi mogli sol za posipanje ulica zamijeniti drugim tvarima npr. pijeskom, piljevinom. Važnost istraživanja ima i podizanje svijesti o opasnostima onečišćenja i utjecajima na biljke.

METODE

Istraživanje je započelo 22. studenoga 2020. godine i trajalo do 19. siječnja 2021.godine.

Istraživanje je provedeno u šest faza:

1. Anketa
2. Istražiti udio kuhinjske soli u sastavu prehrambenih proizvoda
3. Priprema različitih otopina kuhinjske soli
4. Rast i razvoj biljaka bijelog luka
5. Mikroskopiranje – kloroplasta i puči
6. Mjerenje korijena kod uzgojenih biljaka bijelog luka

Anketa

Uzorak na kojem je provedena anketa su osmi, sedmi, šesti i peti razredi osnovne škole (80 učenika). Prije ankete učenicima smo objasnili što je i koliko iznosi naš dnevni a što preporučeni unos kuhinjske soli. Pokazali smo im tablicu sa određenim proizvodima i koliko oni kuhinjske soli sadrže na 100 g, također smo ih obučili kako izračunati unos njihov unos kuhinjske soli. Anketom je istraženo koliko različite dobne skupine učenika koristi u prehrani manje ili više od 5 g kuhinjske soli i koliko često pročitani sastav utječe na odabir njihovih prehrambenih proizvoda. Kako bi oni znali kako izgleda i koliko je to 5 g soli, uzeli smo neke prehrambene proizvode i pokazali koliko toga moraju pojести kako bi unili 5 g kuhinjske soli. Rezultati ankete su izraženi u postotcima (%), a postotci računati su tako da je broj odgovora podijeljen s brojem učenika i pomnožen sa 100.

Udio kuhinjske soli u sastavu prehrambenih proizvoda

Od 10 prehrambenih proizvoda (Čipi čips slani od Francka, Saltas štapići od Koestlina, Popcorn slane kokice od Hrusty -a, Tuc krekeri od Tuc original, Maslac od Dukata, ABC svježi sir od Belja, Kruh rustika, Delikates majoneza od Zvijezde, Gauda polutvrdi sir od Sirele, Pasirana rajčica od Podravke) očitali smo udio kuhinjske soli u 100 g proizvoda. Količina kuhinjske soli u proizvodu podijeljen je s brojem 5 (dnevni unos kuhinjske soli) i pomnožen sa 100. Rezultati su prikazani tablično.

Priprema različitih otopina kuhinjske soli

Pripremljene su tri različite otopine:

- 100 ml vode (otopina 1)
- 100 ml vode u koju se stavilo 0,25 g kuhinjske soli (otopina 2)
- 100 ml vode u koju se stavilo 0,5 g kuhinjske soli (otopina 3)

Rast i razvoj biljaka bijelog luka

U istraživanju su praćene promjene varijabli pri kontroliranim uvjetima. Zavisne varijable su rast i razvoj bijelog luka (stabljike, listova i korijena), položaj i gustoća kloroplasta i puči u listu. Nezavisne varijable



su režnjevi bijelog luka, sunčeva svjetlost, kontrolna skupina. Kontrolirani uvjeti su određena količina kuhinjske soli, voda i temperatura.

Nakon 8 dana, kada su lukovice niknule, započelo je mjerjenje bijelog luka 30. studenoga 2020. godine, a zadnje mjerjenje je bilo 19. siječnja 2021. godine. U istraživanju su korištene lukovice bijelog luka (60 režnjeva) koji je kupljen na tržnici, zemlja podrijetla je Republika Hrvatska, kuhinjska sol, voda, čaše, posude za biljke, humusni supstrat za uzgoj biljaka, metar, svjetlosni mikroskop, pribor za mikroskopiranje te mobitel za fotografiranje.

U šest jednakih posuda za sadnju stavljen je po 500 g humusnog supstrata i češnjevi bijelog luka. Na posude su se stavile oznake 1, 1a, 2, 2a, 3, 3a. Posude s oznakama 1 i 1a zalijevane su otopinom 1 te su služile kao kontrolne posude. Posude s oznakama 2 i 2a zalijevane su otopinom 2. Posude s oznakama 3 i 3a zalijevane su otopinom 3. U svaku posudu posađeno je deset režnjeva. Zalijevanje je bilo svaka četiri dana. Svi su uzorci bili zalijevani istom količinom određene otopine (50 ml). Nakon sadnje sve promjene bilježene su u dnevnik. Klijavost je izražena u postotcima (%). Računala se svaka dva dana tako da se zbroje svi proklijani režnjevi bijelog luka, podijele s brojem zasađenih režnjeva i pomnože sa 100. Nekim režnjevima bijelog luka trebalo je više vremena da prokliju.

Visina stabljike mjerena je pomoću ravnala. Prosječna visina biljke nakon svakog uzorkovanja izračunata je iz formule za aritmetičku sredinu:

$$V \text{ (prosječna)} = (V_1 + V_2 + \dots) : n$$

$V \text{ (prosječna)}$ = prosječna visina stabljike

$V_1, (V_2 \dots)$ = visina jedne stabljike

n = ukupan broj biljaka u posudi

U istraživanju su se uočile razlike u dužinama stabljike bijelog luka te je izračunata srednja vrijednost dužina svih mjerениh biljaka iz jedne posude. Rezultati mjerjenja prikazani su grafički. Kod uzgojenih biljaka svi su se listovi brojili i mjerili te se izračunala srednja vrijednost. Rezultati su prikazani grafom.

Promatrala se obojenost listova, uspoređivani su s kontrolnom skupinom kako bi se uočile razlike. Boja lista određena je prema tablici od četiri nijanse zelene boje.

Tijekom istraživanja pojedine etape zabilježene su fotografiranjem kamerom mobitela. Obrada i analiza dobivenih podataka napravljena je izračunavanjem postotka klijavosti, veličina rasta stabljike listova metodom izračunavanja aritmetičke sredine. Promjene pojedinih mjerjenja dobiju se zbrajanjem prvog i zadnjeg mjerjenja ili brojanja te oduzimanja zbroja prvog mjerjenja od zbroja zadnjeg mjerjenja. Rezultati vezani uz boju listova prikazani su tablično u programu Microsoft Word.

Mikroskopiranje – kloroplasta i puči

Za pripremu i mikroskopiranje preparata koristili smo predmetnice (15 x 15 mm), iglice, kapaljke i svjetlosni mikroskop. Od uzgojenih biljaka uzeti su listovi. A) Žiletom se zarezala površina lista i pincetom je skinuta gornja pokožica lista. Sadržaj (1cm x 1cm) stavio se na predmetno stakalce u kap vode i pokrio pokrovnim stakalcem te se mikroskopirao. Preparati su fotografirani kroz okular mobitelom preko okulara mikroskopa na povećanju od 200x. Fotografije su na računalu izrezivane tako da njihova veličina bude približno jednaka kako bi se mogle usporediti. Mikroskopiranjem je utvrđen raspored kloroplasta u listovima. Denffer i Zigler (1991) navode dva moguća položaja kloroplasta u stanici, kloroplasti koji se nalaze uz bočne stijenke i kloroplasti koji su jednoliko raspoređeni u cijeloj



stanici. Brojnost kloroplasta odredila se od najveće do najmanje. B) Naličje lista premazalo se slojem bezbojnog laka za nokte. Nakon što se osušio, pincetom se skinuo i stavio u kapljicu vode na predmetno stakalce. Sve se pokrilo pokrovnim stakalcem i promatralo pomoću mikroskopa na povećanju od 200 x. Mikroskopiranjem sva tri uzorka utvrđena je brojnost puči. Rezultati su prikazani slikovno.

Mjerenje korijena kod uzgojenih biljaka bijelog luka

Od svih uzgojenih biljaka po skupinama uspoređivala se i mjerila najduža veličina korijena. Rezultati su prikazani tablično u programu Microsoft Word.

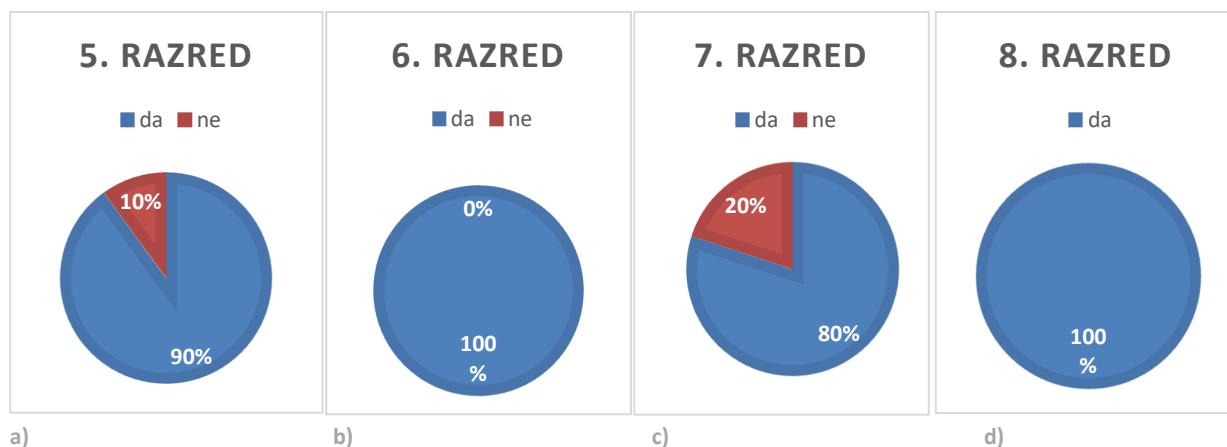
Istraživanje o utjecaju različitih količina soli na uzgoj bijelog luka urađena je u dvije serije da se potvrde rezultati.

REZULTATI

Anketa

U anketi su postavljena dva pitanja na koje su učenici odgovorili nakon što smo im pokazali koliko 5 g soli izgleda kod određenih proizvoda i kako iščitati sastav proizvoda.

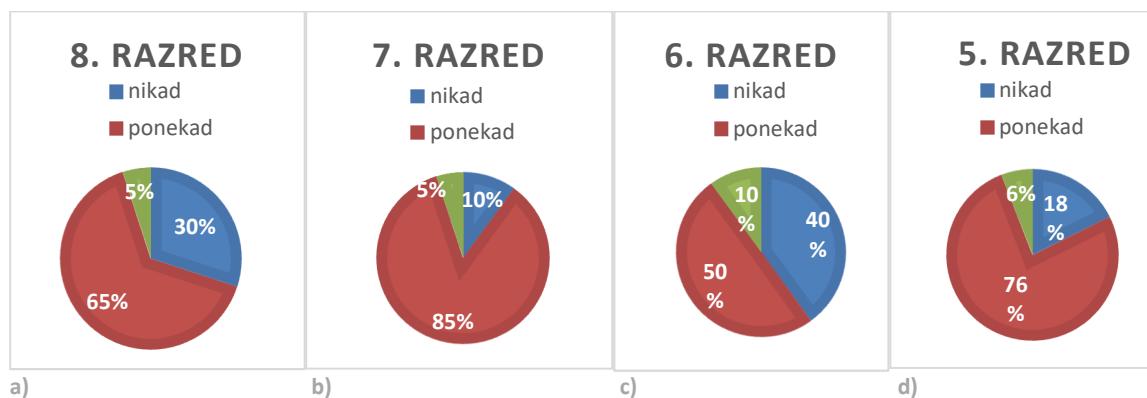
1. Pitanje: *Koristiš li dnevno u prehrani više od 5 g kuhinjske soli? Ponuđeni odgovori: DA, NE.* Rezultati ankete su pokazali da su učenici 8. razreda 100 % odgovorili sa DA (slika 1 pod a). U 7. razredu sa DA odgovorilo je 80 %, a sa NE 20 % (slika 1 pod b). U 6. razredu sa DA odgovorilo je 100% (slika 1 pod c). U 5. razredu sa DA odgovorilo je 90%, a sa NE 10% (slika 1 pod d).



Slika 1 Rezultati prvog pitanja ankete (Koristiš li dnevno u prehrani više od 5 g kuhinjske soli?)

2. Pitanje: *Utječe li pročitani sastav proizvoda u odabiru tvoje prehrane? Ponuđeni odgovori: NIKADA, PONEKAD, STALNO (često).*

Rezultati ankete su pokazali da samo na 5% učenika iz 8. i 7. razreda pročitani sastav utječe na odabir njihove prehrane (slika 2 pod a i b). Kod učenika 6. razreda, pročitani sastav nikad ne utječe na njihov odabir prehrane na 40% razreda, što je najveći postotak od kategorije "nikada" među svim razredima (slika 2 pod c). Na 76% učenika 5. razreda utječe pročitani sastav ponekad utječe na odabir svoje prehrane (slika 2 pod d).



Slika 2 Rezultati drugog pitanja ankete (Utječe li pročitani sastav proizvoda u odabiru tvoje prehrane?)

Udio kuhinjske soli u sastavu prehrambenih proizvoda

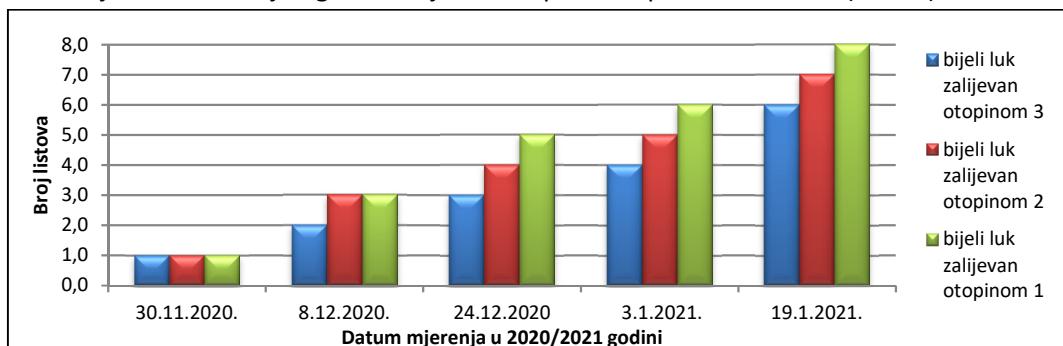
Očitana je količina soli u određenih 10 prehrambenih proizvoda, naš potreban unos (5 g) i izračunao se % od preporučenog unosa (tablica 1). Tablica nam pokazuje koliko pojedini proizvod zauzima od našeg prosječnog unosa.

Tablica 1 Količina soli u prehrambenim proizvodima i postotak od našeg dnevnog unosa kuhinjske soli

Količina soli u 100 g kod 10 prehrambenih proizvoda od našeg dnevnog unosa soli (5 g)		
Naziv proizvoda	Količina soli	Postotak
Čipi čips slani	1,9 g na 5 g	38 %
Saltas štapići	3,1g na 5 g	62 %
Popcorn slane kokice	1,5 g na 5 g	30%
Tuc krekeri	2,35 g na 5 g	47 %
Maslac	0,01 g na 5 g	0,2 %
Abc svježi krem sir	0,8 g na 5 g	1,6 %
Kruh rustika	1,52 g na 5 g	30,4 %
Delikates majoneza	1,4 g na 5 g	28 %
Gauda polutvrđi sir	1,4 g na 5 g	28 %
Pasirana rajčica	0,2 g na 5 g	4 %

Rezultati kod uzgoja biljaka bijelog luka

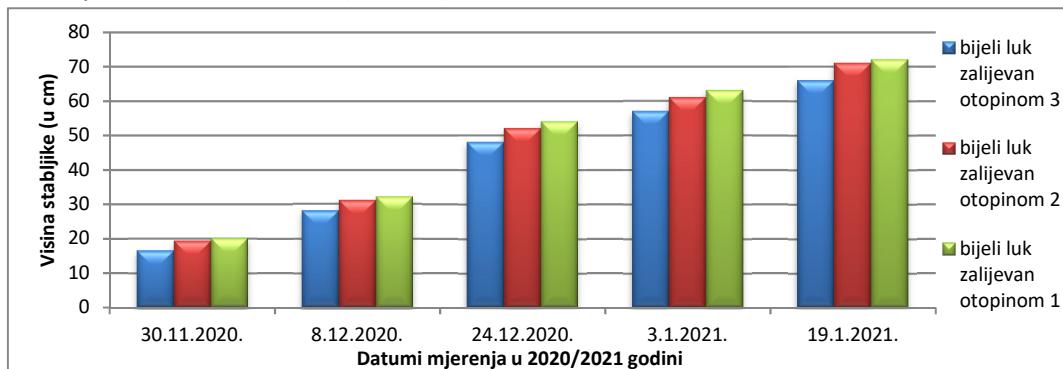
Lukovice su nisknule nakon 8 dana. Klijavost je bila 55%. Kod bijelog luka zalijevanog vodom, od 30.11.2020. do 19.1.2021., prosječan broj listova (prosječan broj listova smo dobili tako što smo zbrojili listove sa svih 10 režnjeva i podijelili sa brojem 10 jer je toliko režnjeva) povećao se na 8. U prethodno navedenom razdoblju, prosječan broj listova kod bijelog luka zalijevan otopinom 2 povećao se na 7, a prosječan broj listova kod bijelog luka zalijevan otopinom 3 povećao se na 6 (slika 9).



Slika 9 Prosječan broj listova bijelog luka zalijevanog otopinom 1,2,3

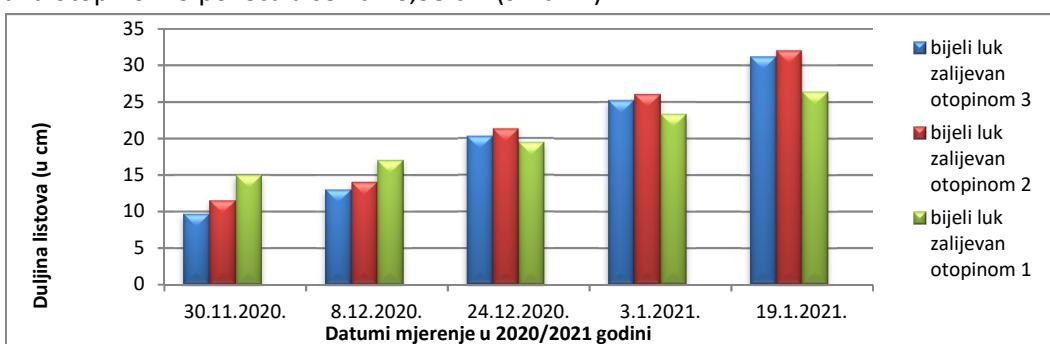


Kod bijelog luka zalijevanog otopinom 1, od 30.11.2020. do 19.1.2021., prosječna visina stabljike povećala se na 74 cm. U prethodno navedenom razdoblju, prosječna visina stabljike kod bijelog luka zalijevana otopinom 2 povećala se na 73 cm, a prosječna visina stabljike kod bijelog luka zalijevana otopinom 3 povećala se na 67 cm (slika 10).



Slika 10 Prosječna visina bijelog luka zalijevana otopinom 1,2,3

Kod bijelog luka zalijevanog otopinom 1, od 30.11.2020. do 19.1.2021., prosječna duljina listova povećala se na 31,16 cm. U prethodno navedenom razdoblju, prosječna duljina listova kod bijelog luka zalijevana otopinom 2 povećala se na 32 cm, a prosječna duljina listova kod bijelog luka zalijevana otopinom 3 povećala se na 26,38 cm (slika 11).



Slika 11 Prosječna duljina listova bijelog luka zalijevanog otopinom 1,2,3

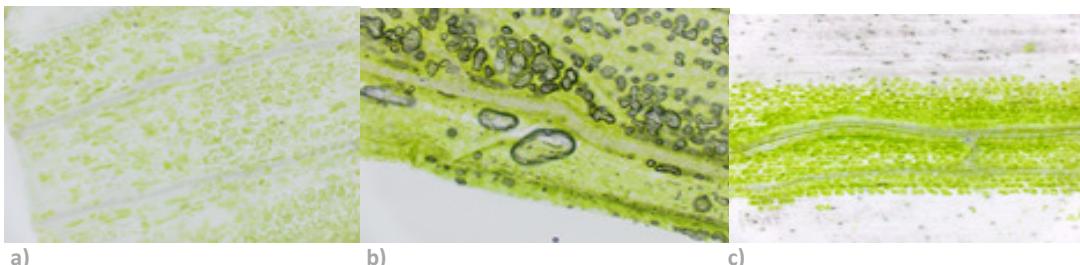
Boje listova kod bijelog luka zalijevanog otopinom 1 nisu se mijenjale, boja je bila tamno zelena. Boje listova kod bijelog luka zalijevana otopinom 2 se mijenjala, na početku istraživanja boja listova bila je tamno zelena pa je kasnije prešla u zelenožutu boju, kod bijelog luka zalijevanog otopinom 3 boja listova se također mijenjala, od zelene boje, žute, a na kraju istraživanja boja listova bila je tamno žuta (tablica 2). Tablica prikazuje boju listova tijekom projekta, svali luk dobiva plus ako su mu listovi bili te boje.

Tablica 2 Boja listova bijelog luka zalijevanog otopinom 1,2,3

Boja	Bijeli luk zalijevan vodom (1)	Bijeli luk zalijevan sa otopinom od 0.25 g soli i 1 decilitrom vode (2)	Bijeli luk zalijevan sa otopinom od 0.5 g soli i 1 decilitrom vode (3)
zelenožuta	+	+	
zelena		+	
žuta			+
tamno zelena			+

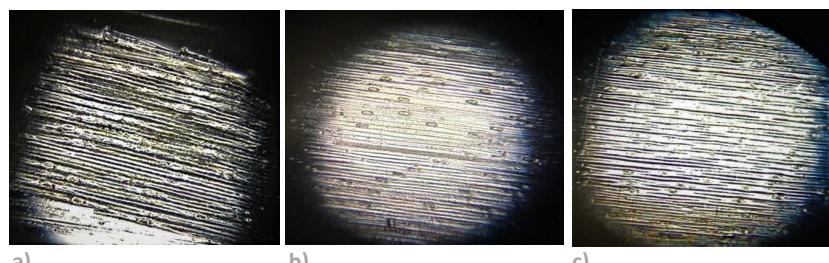


Kod bijelog luka zalijevanog otopinom 1 uočeno je da su kloroplasti ravnomjerno raspoređeni po listu (slika 3 pod a). Kod bijelih lukova zalijevanih otopinom 2 i 3 uočeno je da kloroplasti nisu ravnomjerno raspoređeni po listu te da su gusto zbijeni u biljnim stanicama (slika 3 pod b) i (c).



Slika 3 Kloroplasti u listu bijelih lukova zalijevanih otopinama 1 (a), 2 (b) i 3 (c), povećanje 200x

U listu bijelog luka zalijevanog otopinom 1, uočavamo da su puči ravnomjerno raspoređene te da su jednake veličine (slika 4 pod a).



Slika 4 Puči u listu bijelog luka koji je zalijevan otopinama 1 (a), 2 (b), 3 (c), povećanje 200x

U listu bijelog luka zalijevanog otopinom 2, uočavamo da puči nisu ravnomjerno raspoređene te da nisu jednake veličine (slika 4 pod b) i (c).

Bijeli luk zalijevan otopinom 1 razvio je korijen koji je narastao 21 cm, bijeli luk zalijevan otopinom 2 razvio je korijen koji je narastao 19 cm, bijeli luk zalijevan otopinom 3 razvio je korijen koji je narastao 17 cm (tablica 3, slika 5).

Tablica 3 Veličine najduljih korijena bijelog luka koji su zalijevani otopinom 1, otopinom 2 i otopinom 3

Tekućina za zalijevanje	Veličina korijena
otopina 1	21 cm
otopina 2	19 cm
otopina 3	17 cm



Slika 5 Korijeni biljaka bijelog luka uzgojeni s otopinom 1, otopinom 2, otopinom 3



RASPRAVA

Istraživanja pokazuju da prosječni pojedinac konzumira oko 9–12 grama soli dnevno. Za usporedbu, zdravstveni stručnjaci općenito preporučuju ljudima da ograniče unos natrija na 1.500-2.300 mg dnevno, odnosno na najviše 4–6 grama soli svaki dan. Provedenom anketom potvrđeno je da većina učenika konzumira veće količine kuhinjske soli u svojoj prehrani. Naša pretpostavka da će učenici 8. i 7. razreda u odnosu na 6. i 5. razrede manje trošiti kuhinjske soli u hrani i da će više čitati sastav hrane nije se ostvarila. Naša pretpostavka se nije ostvarila, jer se pokazalo da je svaki razred poseban ali isto tako i jednaki jer se količina odgovara skoro pa svugdje podudara. Rezultati unosa kuhinjske soli u organizam prikazan je grafovima (slika 1 pod a) b) c) i d). Podatci o broju (%) učenika koji čitaju sastav proizvoda prikazan je grafovima (slika 2 pod a) b) c) i d).

Kako bi saznali koliko soli unosimo samo jednom užinom ili jednim prehrabbenim proizvodom, uzeli smo 10 prehrabbenih proizvoda i iz njih iščitali sastav i količinu kuhinjske soli (tablica 1). Čovjekov dnevni unos je od 9 do 12 g kuhinjske soli, a preporučen unos je od 4 do 5 g kuhinjske soli svaki dan. Ako bi smo pojeli vrećicu štapića od 100 g unijeli bi 3,1 g kuhinjske soli u naš organizam, što je 62 % od našeg dnevnog unosa (tablica 1). To je velika količina, jer jedna vrećica štapića nas neće zasiliti za cijeli dan, moramo pojesti i druge obroke.

Rast i razvoj biljaka ovisi o mnogim vanjskim čimbenicima te se smatra da i različite tekućine za zalijevanje kao vanjski čimbenici (<https://edutorij.e-skole.hr>) mogu utjecati na promjene u brzini i kvaliteti rasta i razvoja biljke bijelog luka. Kolar-Fodor (2018) u svom radu izjavljuje da kuhinjska sol može uništiti plodnost tla, što je potvrđeno razvojima naših korijena. Režnjevi zalijevani otopinom 2 razvijali su se bolje nego oni zalijevani otopinom 3, no ipak slabije nego oni zalijevani otopinom 1. Dobiveni rezultati potvrđuju da kuhinjska sol utječe na klijanje režnjeva.

Praćenjem rasta i razvoja biljaka utvrđeno je da se biljke zalijevane otopinom 2 u početku razvijaju jednakomrano kao i one zalijevane otopinom 1. Nakon 6 dana, rast biljaka zalijevanih otopinom 2 postao je neujednačen.

Biljke zalijevane otopinom 3, slabije su se razvijale, stabljika im je otpočetka bila jako tanka te se listovi nisu pravilno razvili, broj listova je manji (slika 9), stabljike su im bile najkraće (slika 10), te su se sve biljke zalijevane takvom otopinom nakon trideset dana osušile. Rezultati potvrđuju točnost naših hipoteza o negativnom učinku soli na razvoj biljaka jer visoka koncentracija otopljenih soli u vodi, snižava vodni potencijal tla, čime ugrožava rast biljke (Rimac, 2005). Biljka se počela tanjiti te listovi propadati. Biljke zalijevane otopinom 2 razvijale su se bolje od onih zalijevanih s otopinom 3, stabljike su im bile malo duže i osušile su se nakon dvadeset i pet dana. Biljke zalijevane otopinom 1 normalno su se razvijale, stabljike su im bile najduže i najdeblje, listovi su se pravilno razvijali tijekom istraživanja. Dobiveni rezultati potvrđuju da je voda najbolja tekućina za razvoj bijelog luka i to je u skladu s podatcima Bird (2005).

Na dijagramima rasta listova pojedinih uzorka uzgojenih biljaka uspoređene su linije prema intenzitetu rasta. Intenzitet boje i rasta pojedine linije mogu ukazati na postojanje razlika u količinama pojedinih sastojaka u uzorcima. Listovi uzgojenih biljaka nakon provedenog istraživanja pokazuju sličan slijed rasta, prosječna duljina listova ovisi o broju listova (slika 11). Naše su pretpostavke potvrđene i u skladu su sa istraživanjem koje je provela Marić (2016), da zaslanjivanje tla povisuje sadržaj natrija i klorida u tkivu lišća, nastaju oštećenja lišća i iglica, odumiranje grančica, smanjuje rast. Kod biljaka



zalijevanih otopinom 1, prema očekivanju, bilo je najviše sljedova zelene boje što je ukazivalo na najveću količinu klorofila. U biljaka zalijevanih otopinom 3 prevladavala je žuta boja što upućuje na manju količinu klorofila, dokaz da sol utječe na rast i boju listova. Kod biljaka zalijevanih otopinom 2 bio je slijed boja miješanja žute i zelene. Istraživanje je potvrdilo našu prepostavku da otopina 2 utječe na rast biljke i na intenzitet boje u listovima.

Najslabije se razvila biljka zalijevana otopinom 3. Najbolje se razvila biljka zalijevana otopinom 1. Mikroskopiranjem listova bijelog luka otkrile su se razlike s obzirom na raspored kloroplasta. Kod bijelog luka zalijevanog vodom kloroplasti su ravnomjerno raspoređeni, kod bijelog luka zalijevanog otopinom 2 i kod bijelog luka zalijevnog otopinom 3, kloroplasti nisu ravnomjerno raspoređeni i gusto su zbijeni u stanici također ih je manje nego kod bijelog luka zalijevanog vodom. Razlog tome je što ioni soli djeluju toksično u visokim koncentracijama.

Mikroskopiranjem bijelog luka dokazalo se da najviše puči ima bijeli luk zalijevan otopinom 3, ali nisu ravnomjerno raspoređeni i različite su veličine. Bijeli luk zalijevan otopinom 2 ima manje puči od bijelog luka zalijevanog otopinom 3, puči nisu ravnomjerno raspoređene i različitih su veličina (slika 17), a kod bijelog luka zalijevanog vodom, puči su ravnomjerno raspoređene i jednake veličine (slika 15). Što je više soli u otopini, to se puči više neravnomjerno raspoređuju i postaju različitih veličina - to je reakcija na podražaje iz okoliša i unutrašnjosti tijela (Begić i sur., 2020).

Dobiveni rezultati potvrđuju da kuhinjska sol utječe na razvoj korijena. Korijenje kod bijelog luka zalijevanog otopinom 1 bilo je dugo, razgranato i debelo, a kod bijelih lukova zalijevanih otopinom 2 i 3 korijenje je bilo kraće i tanje. Što je bilo više soli u otopini, korijeni su bili sve kraći i tanji (tablica 3). U sljedećoj fazi istraživanja trebalo bi uzgajati biljke sve dok se ne razviju cvatovi.

Ovo istraživanje možemo povezati i sa ekološkim problemima koje je istražio Rimac (2005). Na primjer, navodnjavanje može dovesti do nakupljanja soli u tlu, tako da s vremenom zemlja postaje neplodna. Ta pojava koja se naziva salinizacija, ili zaslanjivanje tla, već je dovela do smanjenja poljoprivredne proizvodnje na 50 posto navodnjivanih obradivih površina u svijetu (Rimac, 2005). Zbog salinizacije i prekomernog navodnjavanja uništava se mnogo plodne zemlje. Poljodjelstvo blizu mora ima velike probleme sa solju, jer većina soli potječe od magle koja nastaje isparavanjem morske vode. Još jedan od velikih problema je to što ljudi posipaju sol kako bi se riješili nametnika poput puževa.

ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti:

- ➊ velik broj učenika u ispitanom uzorku troši više kuhinjske soli, prema njihovim vlastitim procjenama, nego što je potrebno;
- ➋ vrlo malen broj učenika čita sastav prehrambenih proizvoda;
- ➌ kuhinjska sol negativno utječe na klijavost režnjeva bijelog luka;
- ➍ otopina 3 u kojoj je veća količina kuhinjske soli smanjuje brojnost listova, visinu stabljike, duljinu listova i utječe na boju listova;
- ➎ kod bijelog luka zalijevanog otopinom 2 i 3, kloroplasti nisu ravnomjerno raspoređeni i gusto su zbijeni u stanici;
- ➏ što je više kuhinjske soli u otopini puči su neravnomjerno raspoređene i različitih su veličina;
- ➐ veličina korijena kod biljka bijelog luka je različita, najmanja je kod biljaka koje su zalijevane većom količinom vode i kuhinjske soli;



- ↙ veća količina soli nepovoljno utječe na plodnost tla a time i na razvoj biljaka bijelog luka;
- ↙ rezultati rada mogu se primijeniti u svakodnevnom životu. Kao što bijelom luku smetaju veće količine kuhinjske soli u vodi tako i veći unos kuhinjske soli u hrani narušava zdravlje čovjeka.

LITERATURA

- Begić V., Bastić M., Madaj Prpić J., Bakarić A. 2020. Reagiraju li biljke i alge na podražaje?, Alfa, Zagreb, str. 93 – 94.
- Bird R., 2005., Vrtnarstvo u voćnjaku i povrtnjaku, LEO- COMMERCE, Rijeka, str. 176 – 177.
- Češnjak – Proleksis enciklopedija, <https://proleksis.lzmk.hr/5246/>, pristupljeno 2. 10. 2020.
- Kolar-Fodor S., 2018. Sol nije sredstvo za biovrt, <https://www.biovrt.com/>, pristupljeno: 12. 11. 2020.
- Koliko soli i šećera treba konzumirati? 2016., <http://ordinacija.vecernji.hr/zdravi-tanjur/jedi-zdravo/evo-odgovora-koliko-soli-i-secera-trebate-konzumirati/>, pristupljeno 4. 11. 2020.
- Kreni zdravo, 2010. Češnjak kao lijek – djelovanje i ljekovitost, <https://www.krenizdravo rtl.hr/alternativna-medicina/biljna-ljekarna/cesnjak-sva-ljekovita-svojstva>, pristupljeno 4. 11. 2020.
- Kuhinjska sol- Proleksis enciklopedija, 2012., <https://proleksis.lzmk.hr/33077/>, pristupljeno 2. 3. 2021.
- Marić, A. M. 2016. Diplomski rad. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb. 1-53 str.
- Rimac, A. 2005. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb. 1-20 str.
- Razvoj, prilagodba i građa biljaka-editorij, 2018., <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-quest/75604ff8-fad0-4b39-9892-22ead3f42bda/biologija-2/m05/j01/index.html>, pristupljeno 16. 2. 2021.
- Tomić, S. A., 1970, Povrtarstvo, Univerzitet u Sarajevu. Sarajevo. 210 -212 str.
- Verbanac D., 2019. Sol. <https://www.plivazdravije.hr/centar/prehrana/namirnica/76/Sol.html>, pristupljeno 11. 12. 2020.
- Žigić A. 2009. Je li češnjak doista toliko zdrav?, <https://www.centarzdravila.hr/hrana%20-i-%20zdravje/zdrava-prehrana/je-%20li-%20%C4%8De%C5%A1njak-doista-toliko-%20zdrav/>, pristupljeno 8. 11. 2020.



ŽIVOTINJE ŠUMSKE STELJE

Viktor Berečki, 8. razred

OŠ Bogumila Tonija, Samobor

Mentor: Nataša Kletečki

SAŽETAK

Istraživanje životinja u uzorcima šumske stelje provedeno je na tri lokaliteta u brežuljkastom predjelu šireg područja grada Samobora (*Park šumi Tepec - Palačnik - Stražnik*). Uzorci šumske stelje prikupljeni su od siječnja 2020. do veljače 2021. godine. Prosijavanjem stelje izdvojene su svoje životinje. Ciljevi istraživanja su bili utvrditi koje životinje žive u šumskoj stelji šume hrasta kitnjaka, bukve i bora te analizirati sličnosti analizirati sličnost svojih između različitih lokaliteta i šumskih zajednica, zabilježenih tijekom cijelog istraživanog perioda. Rezultati istraživanja su pokazali kako različite svoje životinje naseljavaju stelju različitih šumskih zajednica. Uočene su razlike u brojnosti svojih životinja koje naseljavaju šumsku stelju listopadnih i vazdazelenih šuma. Veći broj svojih zabilježen je u šumskoj stelji listopadnih šuma. Svoje životinje i njihova brojnost u stelji razlikuju se ovisno o godišnjem dobu.

Ključne riječi: životinje; stelja; šumske zajednice; brojnost

UVOD

Przemni sloj šume najčešće prekriva šumska prostirka, stelja ili listinac. Čini je sloj lišća listopadnog ili vazdazelenog drveća te prizemnog raslinja (mahovina, paprati i višeg bilja). U pedološkom smislu, to je neznatno izmijenjena prva faza razvoja humusa. Šumska stelja regulira režim vode u šumskome tlu, zadržava u sebi oborinsku vodu i tako na nagnutim terenima smanjuje eroziju, sprječava prekomjerno isparavanje tla (Hrvatska enciklopedija, 2020). No, šumska stelja predstavlja i važnu kariku u kruženju mineralnih tvari i dušika iz tla i atmosfere u žive organizme, a utječe i na produktivnost šume (Perković i sur., 2007).

Promatranjem šumske stelje mogu se uočiti brojni uginuli ili živi organizmi koji u njoj trajno ili privremeno borave (gujavice, puževi, mravi, muhe, pauci, stonoge, skokuni) (Chinery, 1989), a stanovnici su šumskog tla ili prizemnog sloja šume (Priroda Varaždinske županije, 2021). Uočavaju se i razlike u vanjskom izgledu stelje ovisno o šumi u kojoj je nalazimo. U listopadnoj šumi, zbog veće količine šumske stelje (po površini tla), može se naći veća količina životinja. To su: grinje, stonoge, skokuni, lažni škorpioni, dvokrilci, rakovi (Chinery, 1989). U literaturi nismo pronašli točan podatak koje se vrste mogu očekivati u kojem tipu šuma jer takva istraživanja u nas nisu provođena.

Ciljevi istraživanja su:

- ➊ utvrditi i odrediti koje životinje (određivanjem pojasnika, paučnjaka, rakova, kukaca do reda, striga i dvojenoga do podrazreda, a puževa do razreda) žive u šumskoj stelji na izabranim lokalitetima (različite šumske zajednice);
- ➋ Sörensenovim koeficijentom sličnosti, analizirati sličnost svojih između različitih lokaliteta i šumskih zajednica, zabilježenih tijekom cijelog istraživanog perioda.

Pretpostavka:

- ➌ različite svoje životinje naseljavaju stelju listopadne (puževi, rakovi, kolutićavci, paučnjaci, stonoge, kukci) i vazdazelene šume (stonoge, kukci);
- ➍ svoje životinje i njihova brojnost u stelji različitih šumskih zajednica/lokaliteta razlikuju se ovisno o godišnjem dobu.



METODE

Istraživanje je provedeno na tri lokaliteta u brežuljkastom (*Park šumi Tepec - Palačnik - Stražnik*) predjelu šireg područja grada Samobora.

Područje *Park šume Tepec - Palačnik - Stražnik* čine tri predjela Samoborskog gorja čije sjeverne, sjeveroistočne i sjeverozapadne padine park šuma zauzima. Predio Tepec obuhvaća greben koji na zapadu omeđuje desna obala potoka Rudarska Gradna, na sjeveru potok Gradna, a na istoku i jugoistoku privatni posjedi. Predio Palačnik se nadovezuje na predio Tepec prema zapadu i obuhvaća površine između lijeve obale Rudarske Gradne i desne obale glavnog potoka Gradne, te privatnih posjeda s južne i jugozapadne strane. Predio Stražnik je najmanji kompleks koji obuhvaća kosu sa sjeverozapadne strane Samobora. Ovo područje je brdovito sa izraženim grebenima i strmim padinama. Najviša kota predjela Tepec iznosi 394 m, Palačnik 429 m, a Stražnik 280 m. Nagibi su na ovom prostoru pretežno veliki i kreću se od 15° do 50°, a često prelaze i 50°, dok je ekspozicija pojedinih predjela vrlo različita. Na području *Park šume Tepec - Palačnik - Stražnik* razvile su se sljedeće šumske zajednice: šuma hrasta kitnjaka i običnog graba s bukvom, brdska šuma bukve, šuma bukve i bekice, šuma kitnjaka i pitomog kestena, šuma hrasta medunca i crnog graba. Unutar navedenih šumskih zajednica nalaze se i zasađene sastojine smreke, crnog bora i ariša (Anonimus, 1995).

Klima ovog područja klasificirana prema Köppenovoj klasifikaciji pripada *Cfwbx* tipu *C-toplo - umjereni kišne klime*. Ovaj tip klime karakteriziraju svježa ljeta i oborine podjednako raspoređene tijekom cijele godine, a hladna godišnja doba najsuši su dio godine. Maksimumi oborina su u rano proljeće i kasnu jesen. Reljef utječe na količinu oborina, jer se porastom nadmorske visine povećava i godišnja količina oborina (Penzar i Penzar, 1982).

Popis lokaliteta:

- 1) šuma bukve, Tepec, Samobor
- 2) miješana šuma hrasta medunca i crnog graba, Stražnik, Samobor
- 3) sađena šuma crnog bora, Stražnik, Samobor

Materijal i pribor

Tri plastične vrećice, sito, bijeli A3 papir, električna žarulja, lijevak, prazna metalna konzerva, dvije staklene posude, staklene pločice za uzorke, plastična cijev promjera 2 cm, metalna mreža površine 20 cm X 20 cm, alkohol, kist, dvije staklene cjevčice, pluteni čep, termometar, GPS GARMIN.

Rad na terenu

U tri različite, već navedene, šumske zajednice šireg područja grada Samobora prikupljani su uzorci šumske stelje (vlažnog lišća iznad površine šumskog tla) od siječnja 2020. do veljače 2021. godine (slika 1). Uzorci nisu prikupljeni samo u razdoblju kada je bio *lockdown* te kada je nastava provođena na daljinu zbog samoizolacije učenika (studeni-prosinac).

Uzorkovanje je provođeno u dužem vremenskom razdoblju kako bi se uočilo postoje li razlike u brojnosti i prisutnosti vrsta/svojstvi životinja, stalnih ili povremenih stanovnika šumske stelje.

Na svakom od istraživanih staništa/lokaliteta određena je trajna ploha veličine 1x1 m za koju su GPS GARMIN određene koordinate i nadmorska visina.

Tijekom svakog izlaska na teren u plastičnu su se vrećicu (3 kg) skupljali uzorci (slika 2) šumske stelje te određivala temperatura zraka.



Slika 1 Prikupljanje uzorka



Slika 2 Uzorak prikupljen u šumi bora

Rad u laboratoriju

Šumska stelja iz svake vrećice donesene u školu odvajala se na sljedeći način:

- ➊ pomoću žarulje u Tulgrenovom lijevku
- ➋ prosijavanjem kroz sito i skupljanjem ekshaustorom

Odvajanje pomoću žarulje u Tulgrenovom lijevku

Tulgrenov je lijevak izrađen od prazne konzerve komposta na koju je s donje strane pričvršćena metalna mreža. Tijekom odvajanja životinja Tulgrenov je lijevak do polovine napunjen steljom te položen u plastični lijevak prethodno smješten u staklenu posudu s alkoholom (slika 3). Posuda je odložena u kutiju, a iznad nje je postavljena električna žarulja. Toplina žarulje potiče životinje na prolaz kroz lijevak pri čemu padaju u staklenu posudu s alkoholom.

Prosijavanje kroz sito i skupljaju ekshaustorom

Životinje su prosijavane kroz sito i skupljane ekshaustorom. Ekshaustor je sprava koja se sastoji od boce zatvorene čepom kroz koju prolaze dvije cjevčice savijene pod kutom od 90° na koje su smještene dvije staklene cjevčice. Jedna cjevčica je fleksibilna i s njome se skupljaju (usisavaju) životinje dok se na donjem dijelu druge cjevčice nalazi vata koja onemogućava da životinje istraživaču udru u usta (slika 4). Životinje skupljene u bocu prekrivaju se slojem alkohola (slika 5). Dodatnim prosijavanjem na bijeli A3 papir izdvajaju se uginuli organizmi i njihovi dijelovi (slika 6).

Slika 3 Izdvajanje životinja šumske stelje
pomoću žarulje u Tulgrenovom lijevku

Slika 4 Izdvajanje životinja sitom i ekshaustorom

Determinacija je provođena uz pomoć slijedeće literature: Toman i Felix (1990), Matoničkin i sur. (1981), Chinery (1993), te Triplehorn i Johnson (2005). Uzorkovane životinje promatrале су se pomoću



lupe i razvrstavale do one sistematske kategorije koja je potrebna za faunističku analizu (pojasnici, paučnjaci, rakovi, kukci do reda, strige i dvojenoge do podrazreda, a puževi do razreda). Sistematski popis izrađen je prema Matoničkin i sur. (1981) od nižih prema višim beskralježnjacima.



Slika 5 Uzorak pripremljen za determinaciju



Slika 6 Prosijana stelja

Metoda obrade podataka

Tijekom obrade su:

- ➊ određivane životinje stanovnici šumske stelje na odabranim lokalitetima;
- ➋ određivana zastupljenost svojti životinja prema tipu šumske zajednice u kojem je smješten lokalitet;
- ➌ analizirana sličnost između lokaliteta pomoću Sőrensenovog koeficijenta sličnosti.

Sőrensenov koeficijent sličnosti (Štamol, 1985):

$$S = \frac{2c}{a+b} \times 100$$

c – broj zajedničkih vrsta na dva staništa
 a – ukupni broj vrsta na prvom staništu
 b – ukupni broj vrsta na drugom staništu

Rezultati istraživanja prezentirani su u Gradskoj knjižnici Samobor u obliku izložbe tijekom obilježavanja Dana planeta Zemlje. Izložba fotografija svojti životinja i njihovih staništa bit će postavljena na Dan biološke raznolikosti u školsko knjižnici naše škole. Za prikupljanje uzorka dobivena je dozvola Javne ustanove Zeleni prsten Zagrebačke županije i Hrvatskih šuma, Šumarija Samobor koje upravljaju ovim prostorom.

REZULTATI

Sistematski popis prikupljenih vrsta

Sistematski popis prema Matoničkinu (1981) od nižih prema višim beskralježnjacima. Uz prikupljenu svojtu navedeno je i njezino stanište na slijedeći način: **1** (šuma bukve), **2** (šuma hrasta kitnjaka), **3** (šuma bora).

Koljeno: Mollusca, mekušci

Razred: Gastropoda, puževi–**1,2,3**

Koljeno: Annelida, kolutićavci

Razred: Clitellata, pojasnici

Red: Oligochaeta- **1, 2,3**

Koljeno: Arthropoda, člankonošci

Razred: Arachnida, paučnjaci

Red: Araneae- **1, 2, 3**

Red: Pseudoscorpiones- **1, 2,3**

Red: Opiliones- **1**

Red: Acarine- **1,3****Razred: Crustacea**, raci

Podrazred : Malacrostraca

Nadred: Meracarida

Red: Isopoda - **1, 2****Potkoljeno: Tracheata****Razred: Myrapode**, stonogePodrazred: Chilopoda, strige -**1, 2,3**Podrazred: Diplopode, dvojenoge-**2,3****Razred: Insecta**, kukciSkupni naziv: *Apterygota, beskrilci***Podrazred: Entotropha**, unutarustiRed: Collembola - **1, 2**Skupni naziv: *Pterygota, krilaši*

Odsjek: Polynoeoptera, mnogonovokrilaši

Nadred: Blattopteroida, žoharokrilaši

Red: Dyctyoptera, žoharaši-**3**

Nadred: Coleopteroidea

Red: Coleoptera -**1, 2,3**

Odsjek: Oligoneoptera

Nadred: Mecopteroida

Red: Diptera, dvokrilci - **1, 2,3**

Popis prikupljenih svojtih prema staništu

Nakon analize uzorka i determinacije, prikupljene svojte prikazane su sistematskim redom prema šumskim zajednicama i vremenu kada su prikupljene (tablica 1). Iz tablice je vidljivo kako u svim uzorcima šumske stelje nije bilo životinja u veljači (šuma bora), srpnju (šuma bukve) i rujnu (šuma bora) 2020., te siječnju 2021. godine.

Tablica 1 Popis prikupljenih vrsta prema staništima tijekom 2020. i 2021.godine.

datum	temperatura zraka	šuma bukve (1)	šuma hrasta kitnjaka (2)	šuma bora (3)
	nadmorska visina	215 m	254 m	271 m
18.01.2020.	1 °C	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Acarine Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta Red: Collembola	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Podrazred: Diplopode	Razred: Arachnida , Red: Araneae Razred: Myrapode Podrazred: Diplopode Razred: Insecta Red: Coleoptera
23.02.2020.	10 °C	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Opiliones Razred: Insecta Red: Collembola Red: Coleoptera	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Myrapode Podrazred: Diplopode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta Red: Collembola Red: Coleoptera Red: Diptera	uzorak bez životinja, samo biljni ostaci
12.03.2020.	9 °C	Razred: Gastropoda Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta Red: Collembola Red:Diptera, dvokrilci	Razred:Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Crustacea Red: Isopoda Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta Red: Collembola	Razred: Arachnida Red: Acarine Razred: Insecta Red: Dyctyoptera Red: Diptera



datum	temperatura zraka	šuma bukve (1)	šuma hrasta kitnjaka (2)	šuma bora (3)
13.05.2020.	18 °C	Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda	Razred: Gastropoda Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Arachnida Red: Araneae Red: Pseudoscorpiones Razred: Myrapode Podrazred: Diplopode Podrazred: Chilopoda Razred: Crustacea Red: Isopoda Razred: Insecta Red: Collembola Red: Diptera	Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Podrazred: Diplopode Razred: Insecta Red: Coleoptera Red: Diptera
9.06.2020.	17 °C	Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta Red: Collembola Red: Diptera	Razred: Gastropoda Razred: Insecta	Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Arachnida Red: Pseudoscorpiones Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Podrazred: Diplopode
10.07.2020.	25 °C	uzorak bez životinja, samo biljni ostaci	Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Insecta Red: Coleoptera	Razred: Gastropoda Razred: Myrapode Podrazred: Diplopode
22.09.2020.	20° C	Razred: Gastropoda Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Arachnida Red: Acarine Red: Opiliones Red: Pseudoscorpiones Razred: Crustacea Red: Isopoda Razred: Insecta Red: Diptera	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Insecta Red: Diptera, dvokrilci	uzorak bez životinja, samo biljni ostaci
15.10.2020.	9 °C	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Acarine Razred: Insecta Red: Collembola	Razred: Clitellata Red: Oligochaeta Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Insecta Red: Collembola	Razred: Gastropoda
20.01.2021.	7 °C	Razred: Arachnida Red: Acarine Razred: Insecta Red: Collembola	Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Crustacea Red: Isopoda Razred: Insecta Red: Collembola	uzorak bez životinja, samo biljni ostaci
14.02.2021.	2 °C	Razred: Gastropoda Razred: Arachnida Red: Araneae Red: Pseudoscorpiones Razred: Insecta Red: Diptera	Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Podrazred: Diplopode Razred: Arachnida Red: Araneae Razred: Crustacea Red: Isopoda Razred: Insecta, kukci Red: Coleoptera Red: Diptera, dvokrilci	Razred: Myrapode, stonoge Podrazred: Chilopoda, strige Razred: Arachnida Red: Araneae Red: Acarine Razred: Myrapode Podrazred: Chilopoda Razred: Insecta, kukci Red: Coleoptera Red: Diptera, dvokrilci

Popis svih prikupljenih svojti tijekom istraživanog razdoblja prikazan je u tablici 2. Iz tablice 2 je vidljivo kako je najveći ukupan (prikupljen tijekom cijelog istraživanja) broj svojti prikupljen u šumskoj stelji bukove šume, 11 svojti.

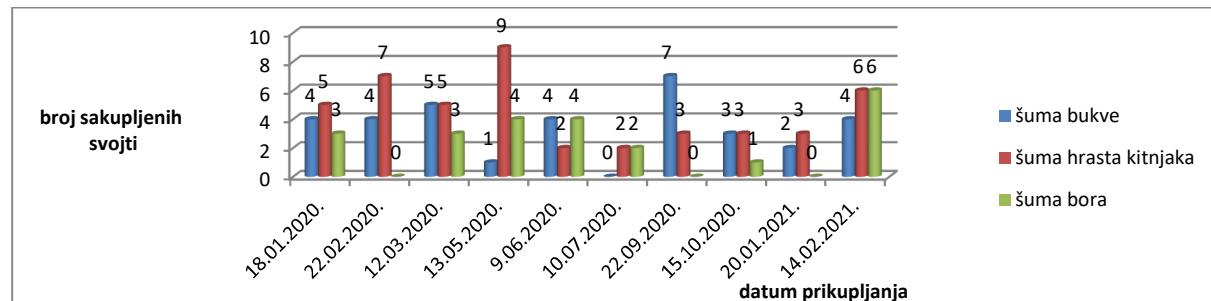


Tablica 2 Popis prikupljenih svojti prema staništima tijekom cijelog perioda prikupljanja

šuma bukve (1)	šuma hrasta kitnjaka (2)	šuma bora (3)
Razred: Gastropoda	Razred: Gastropoda	Razred: Gastropoda
Razred: Clitellata	Razred: Clitellata	Razred: Clitellata
Red: Oligochaeta	Red: Oligochaeta	Red: Oligochaeta
Razred: Arachnida	Razred: Arachnida	Razred: Arachnida
Red: Araneae	Red: Araneae	Red: Araneae
Red: Pseudoscorpiones	Red: Pseudoscorpiones	Red: Pseudoscorpiones
Red: Opiliones		
Red: Acarina		
Razred: Crustacea	Razred: Crustacea	Razred: Myrapode
Red: Isopoda	Red: Isopoda	Podrazred: Chilopoda
Razred: Myrapode	Razred: Myrapode	Podrazred: Diplopoda
Podrazred: Chilopoda	Podrazred: Chilopoda	Podrazred: Diplopoda
Razred: Insecta	Razred: Insecta	Razred: Insecta
Red: Collembola	Red: Collembola	Red: Coleoptera
Red: Coleoptera	Red: Coleoptera	Red: Dyctyoptera
Red: Diptera	Red: Diptera	Red: Diptera

Broj prikupljenih svojti prema istraživanim šumskim zajednicama

Iz slike 7 je vidljivo kako je najveći broj svojti (njih 9) zabilježen u šumskoj stelji šume hrasta kitnjaka u svibnju 2020., 9 svojti. Broj svojti u ovoj šumskoj zajednici raste od veljače prema svibnju, a smanjuje se tijekom ljetnih mjeseci. Tijekom toplog dijela godine (lipanj-rujan) najveći je broj svojti zabilježen u šumskoj stelji bukove šume (njih 7).



Slika 7 Broj sakupljenih svojti životinja u uzorcima šumske stelje različitim šumskim zajednicama
Park šume Tepec – Palačnik – Stražnik

Sličnost između istraživanih šumskih zajednica

Analizom sličnosti utvrdili smo najveću sličnost između šume hrasta kitnjaka i šume bukve (85,7%). Nešto je manja sličnost između šume hrasta kitnjaka i bora te iznosi 80,0%, dok je najmanja sličnost između šume bora i šume bukve (76,2%).

Tablica 3 Sličnost između istraživanih šumskih zajednica

	šuma bukve	šuma hrasta kitnjaka	šuma bora
šuma bukve	0	85,7 %	76,2 %
šuma hrasta kitnjaka	0	0	80,0 %
šuma bora	0	0	0

RASPRAVA

Prema rezultatima provedenih istraživanja vidljivo je kako se broj i svoje životinja u šumskim steljama različitim šumskim zajednicama Park šume Tepec – Palačnik – Stražnik međusobno razlikuju. Najveći broj sakupljenih svojti tijekom cijelog istraživanja, zabilježen je u šumi bukve, iako u srpnju na tom staništu nije zabilježena niti jedna svojta. Šumska stelja u pedološkom smislu predstavlja prvu fazu razvoja



humusa. Prema našim opažanjima, najviše šumske stelje (po površini tla) bilo je u šumi bukve. Šuma bukve na predjelu Tepec smještena je uz potok Gradnu i jedan od izvora podno starog grada čime predstavlja nešto vlažnije stanište. Iz navedenih razloga na ovom bi prostoru predstavljala pogodnije stanište za život. Najveći broj svojti životinja tijekom proljetnih mjeseci (svibanj 2020.) zabilježen je u šumskoj stelji šume hrasta kitnjaka. Uočavaju se i razlike u vanjskom izgledu stelje ovisno o šumi u kojoj je nalazimo (Chinery, 1989). Šuma hrasta kitnjaka je šuma svjetla (Bučar, 2016), a u toplijem dijelu godine veća količina svjetla smanjuje vlažnost stelje, a time i broj vrsta.

U vazdazelenim šumama, šumama bora, zabilježen je najmanji broj svojti tijekom cijelog istraživanog razdoblja. Čak u tri uzorka, u različitim godišnjim dobima, nije zabilježena niti jedna svojta životinja. Šumska stelja predstavlja i važnu kariku u kruženju mineralnih tvari i dušika iz tla i atmosfere u žive organizme, a utječe i na produktivnost šume. Šumska stelja vazdazelenih šuma oskudnija je (po površini tla) od šumske stelje u listopadnim šumama. U prizemnom sloju vazdazelenih šuma intenzivno se akumulira organski materijal siromašan bjelančevinama i mineralnim tvarima, a bogat kiselim tvarima. Takav se materijal sporo razgrađuje i predstavlja nepovoljnu hranu za mnoge organizme (Perković i sur., 2007).

U literaturi nismo pronašli točan podatak koje se vrste/svojte mogu očekivati u kojem tipu šuma i što utječe na njihovu zastupljenost, jer takva istraživanja u nas nisu provođena.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja donijeti su sljedeći zaključci:

- ➊ različite svojte životinja naseljavaju stelju različitih šumskih zajednica;
- ➋ uočljive su razlike u brojnosti svojti životinja koje naseljavaju šumsku stelju listopadnih i vazdazelenih šuma;
- ➌ veći broj svojti zabilježen je u šumskoj stelji listopadnih šuma;
- ➍ svojte životinja i njihova brojnost u stelji razlikuju se ovisno o godišnjem dobu;
- ➎ najveća sličnost u svojstama uočena je između listopadnih šuma, šume hrasta kitnjaka i bukve.

ZAHVALA

Zahvalnost za veliku pomoć u svim etapama ovog istraživanja dugujem svojoj baki Branki Petracić, nastavnici savjetnici i učeniku Luki Štrkalju koji je sudjelovao u prikupljanju uzoraka.

LITERATURA

- Anonimus 1995. Program gospodarenja (njege, obnove, održanja i zaštite) za gospodarsku jedinicu Tepec-Palačnik-Stražnik. Odjel za uređenje šuma, Hrvatske šume. Zagreb
- Bučar M. 2016. Hrastove šume u Hrvatskoj. Seminarski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet. Zagreb
- Chinery M. 1989. Tisuću ideja za prirodoslovca. Svetlost. Sarajevo: 80-81.
- Chinery M. 1993. Collins Field Guide - Insects of Britain and Northern Europe", Harper Collins, London.
- Hrvatska enciklopedija. 2020. Listinac. <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=36793>, pristupljeno 10. 1. 2021.
- Matoničkin I., Habdija I., Primc-Habdija B. 1981. Beskralfješnjaci, biologija viših avertebrata. Školska knjiga, Zagreb.
- Penzar B., Penzar I. 1982. Prikaz godišnjeg hoda oborina u Hrvatskoj pomoću Köppenove sheme, Radovi 17 - 18: 3 - 9
- Perković I., Pernar N., Vrbek B., Bakšić D., Pilaš I., Presečan M. 2007. Utjecaj kulture obične smreke Rad. Šumarski institut. Jastrebarsko 42 (2): 95–107
- Priroda Varaždinske županije. 2021. Dravska Park Šuma. <https://priroda-vz.hr/wp-content/uploads/2017/12/Dravska-Park-Suma.pdf>, pristupljeno 10. 1. 2021.
- Štamol V. 1985. Cenološka istraživanja puževa (Gastropoda) u šumskim fitocenozama Medvednice. Magistarski rad, Zagreb: 15-17
- Toman J., Felix J. 1990. A Field Guide in Colour to Plants and Animals. Polygrafia, Prague.
- Triplehorn C.A., Johnson N.F. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. Brooks/Cole, Belmont.

UTJECAJ RAZLIČITIH VALNIH DULJINA SVJETLOSTI NA PROIZVODNJU KISIKA U KANADSKE VODENE KUGE

Đurđica Kovačić, 2. razred

III. gimnazija, Split
Mentor: Vesna Dobronić

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti utjecaj svjetlosti različitih valnih duljina na proizvodnju kisika tijekom fotosinteze u kanadske vodene kuge te odrediti najprecizniju metodu određivanja količine proizvedenog kisika u vodi tijekom fotosinteze. Uspoređeno je djelovanje četiri različite valne duljine: 280 nm (UV), 470 nm (plava), 520 nm (zelena) i 665 nm (crvena). Količina proizvedenog kisika je izmjerena modificiranim metodom po Ivanovu i Kosoviću; mjerjenjem površine mjehurića kisika te mjerjenjem pH vrijednosti otopine prije i poslije fotosinteze. Kao referentna metoda korišteno je mjerjenje količine kisika oksimetrom. Rezultati su pokazali da je kanadska vodena kuga proizvela najviše kisika pod utjecajem plave svjetlosti, a najmanje pod utjecajem zelene. Najpreciznija metoda za mjerjenje proizvedenog kisika fotosinteza bila je modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviću čiji su se rezultati najviše podudarali s rezultatima dobivenim oksimetrom.

Ključne riječi: fotosinteza, oksimetar, svjetlost

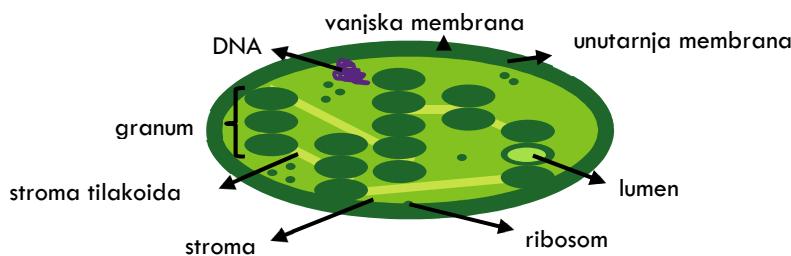
UVOD

Kanadska vodena kuga (*Elodea canadensis* Michx.) je podvodna vodena biljka jednosupnica iz porodice žabogriza (Hydrocharitaceae). Rod *Elodea* kojemu ova biljka pripada je poznat po proizvodnji velike količine kisika tijekom fotosinteze (Britannica, 2020).

Fotosinteza je kemijski proces kojim biljke koriste svjetlosnu energiju za sintezu organskih tvari, pri čemu nastaje kisik te se prikazuje jednadžbom:



Fotosinteza se sastoji od primarnih (tilakoidnih) i sekundarnih reakcija (reakcija fiksacije CO₂). Proces fotosinteze se odvija u kloroplastima biljke. Kloroplasti su plastidi koji, uz ostale biljne pigmente, sadrže klorofil *a* i *b* koji su zaslužni za pretvaranje svjetlosne energije u kemijsku tj. fotosintezu. Najviše kloroplasta (50-150) nalazimo u stanicama mezofila lista te su zbog toga listovi primarno zaduženi za fotosintezu. Vanjska membrana kloroplasta je glatka i odvaja kloroplaste od citosola, a unutarnja membrana je naborana kako bi se povećala funkcionalna površina. Tilakoide su nabori unutarnje membrane. Postoje dva tipa tilakoidnih membrana, grana tilakoidi, spljoštene nakupine tilakoida u obliku diska i stroma tilakoidi koji povezuju grana tilakoide (slika 1).

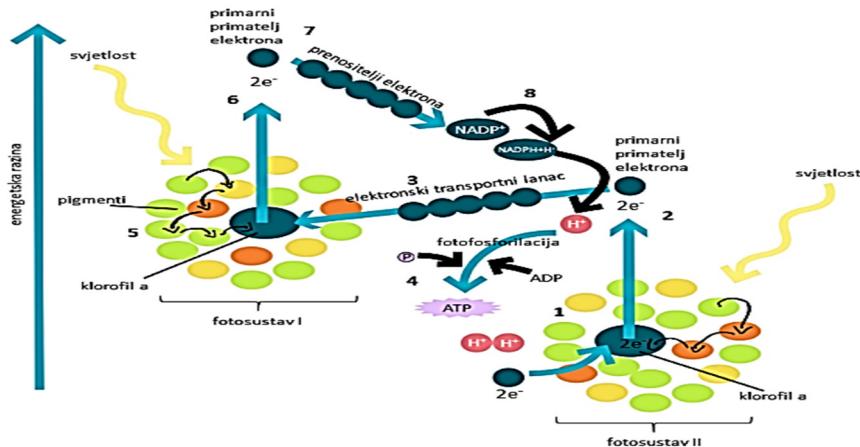


Slika 1 Građa kloroplasta (autorov crtež)

Primarne ili svjetlosne reakcije odvijaju se u specijaliziranim biomembranama kloroplasta gdje se svjetlosna energija pretvara u kemijsku energiju (ATP i NADPH) uz pomoć fotosustava tj. dvaju proteinskih kompleksa. U fotosustavu I, antiske molekule fotone svjetlosti usmjeravaju u reakcijsko središte gdje se nalazi klorofil *a* koji sadrži atom magnezija. Pomoću energije fotona, iz atoma



magnezija se izbacuju dva elektrona te oni prelaze na NADP^+ koji se zatim reducira u NADPH . U isto vrijeme iz fotosustava II se izbacuju dva elektrona kako bi nadoknadili dva izbačena elektrona iz fotosustava I. Kad fotosustav II izbaci elektrone on postaje jaki oksidans koji oduzima elektrone kisiku u molekuli vode. Pritom se voda, pomoću svjetlosti, razgrađuje na vodikove ione i elementarni kisik koji se oslobođa u atmosferu kao nusprodukt fotosinteze (slika 2) (Lukša i Mikulić, 2014).

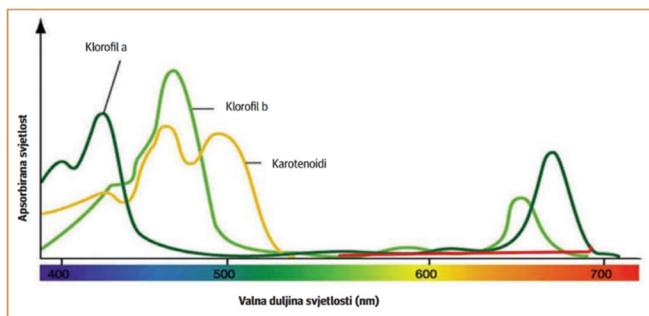


Slika 2 Shema primarnih reakcija fotosinteze (slika nacrtana u Assembly-u) (autorov crtež)

Za fotosintezu kod biljaka je zaslužno više pigmenata, ali najbitniji su klorofil *a* i *b*. Klorofil *a* i *b* apsorbiraju svjetlost crvenog (600-700 nm) i plavog (425-450 nm) dijela spektra, a odbijaju svjetlost zelenog (495-570 nm) dijela spektra. Pri apsorbiranju svjetlosti, klorofil prima fotone tj. iz osnovnog stanja prelazi u pobuđeno. U pobuđenom stanju klorofil je nestabilan te se brzo vraća u osnovno stanje uz oslobođanje energije toplinom, fluorescencijom, te prijenosom energije ili fotokemijskim reakcijama poput fotosinteze. UV svjetlost ima veću energiju od bijele svjetlosti te uzrokuje prijelaz elektrona na energetsku razinu koja je viša od energetske razine nakon apsorpcije bijele svjetlosti. Zbog toga se klorofil brže vraća u osnovno stanje uz brže oslobođanje energije npr. fotosintezom (Lazarević i Poljak, 2019) (slika 3).

Fotosinteza je bazičan proces. Nakon fotosinteze pH-vrijednost vode je viša od pH-vrijednosti vode prije fotosinteze jer biljke koriste CO_2 iz vode te se otopini smanjuje kiselost. Količina apsorbiranog CO_2 je ekvivalentna količini proizvedenog O_2 tj. što je veća razlika između pH-vrijednosti otopine prije i poslije fotosinteze veća je i proizvedena količina kisika (Hrvatska enciklopedija, 2020).

U svom istraživanju o utjecaju plave svjetlosti na fotosintezu, Hogewoning i sur. (2010) su otkrili da se fotosinteza u krastavaca *Cucumis sativus* ne odvija bez plave svjetlosti te da kapacitet fotosinteze raste porastom postotka plave svjetlosti.



Slika 3 Apsorpcija bijele svjetlosti u klorofilu a i b te u karotenoidima (izvor: Lazarević i Poljak, 2019)



Kontroliranjem valnih duljina svjetlosti bi potencijalno mogli poboljšati uvjete uzgoja biljaka u zatvorenim prostorima. Pretraživanjem literature primijećen je veći broj eksperimenata baziranih na analiziranju utjecaja valne duljine na npr. rast biljaka (Johkan i sur., 2012.), a znatno manje baziranih na količinu kisika proizvedenog tijekom fotosinteze

Cilj istraživanja je odrediti pod utjecajem koje valne duljine svjetlosti: 280 nm (UV), 470 nm (plava), 520 nm (zelena) i 665 nm (crvena) se proizvodi najveća količina kisika te koja je najpreciznija metoda određivanja količine kisika u vodi, proizvedenog tijekom fotosinteze.

Postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Prilikom izlaganja plavom svjetlu proizvest će se najveći volumen kisika jer klorofil najbolje apsorbira plavu svjetlost.
2. Najmanji volumen kisika će se proizvesti prilikom izlaganja zelenoj svjetlosti jer klorofil odbija zelenu svjetlost.
3. pH-vrijednost otopine će biti veća nakon izlaganja svjetlosti jer će biljka trošiti ugljikov dioksid iz otopine, te će se u otopini smanjivati koncentracija oksonijevih iona.
4. Najpreciznija metoda određivanja količine kisika u vodi proizvedenog tijekom fotosinteze će biti modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviću jer u mjerenu volumena mjehurića kisika nema načina za kvantitativno mjerjenje čistog kisika u mjehuriću.

METODE

Za eksperimentalnu biljku odabrana je kanadska vodena kuga (*Elodea canadensis* Michx.). Izvedena su tri eksperimentalna postava za uspoređivanje dobivenih vrijednosti volumena kisika. Nezavisna varijabla u istraživanju je valna duljina svjetlosti: 280 nm (UV), 470 nm (plava), 520 nm (zelena) i 665 nm (crvena) (tablica 1). Izvori svjetlosti su LED diode intenziteta svjetlosti od 180 candela.

Uzorci su izloženi svjetlu na udaljenosti 10 cm od LED dioda i trajanju od 1 sata i 40 minuta, 24 sata ili 20 minuta (tablica 1; slike 4 i 7).

Pri istraživanju utjecaja svjetlosti u kontrolnoj skupini je biljka izložena valnoj duljini od 470 nm (plava) jer je dokazano da se fotosinteza najbrže odvija pod utjecajem plave svjetlosti. Volumen kisika je mјeren oksimetrom.

Svaki pokus je ponovljen 10 puta, sa svakom valnom duljinom (tablica 1, slike 4, 5 i 6).

Tablica 1. Plan istraživanja

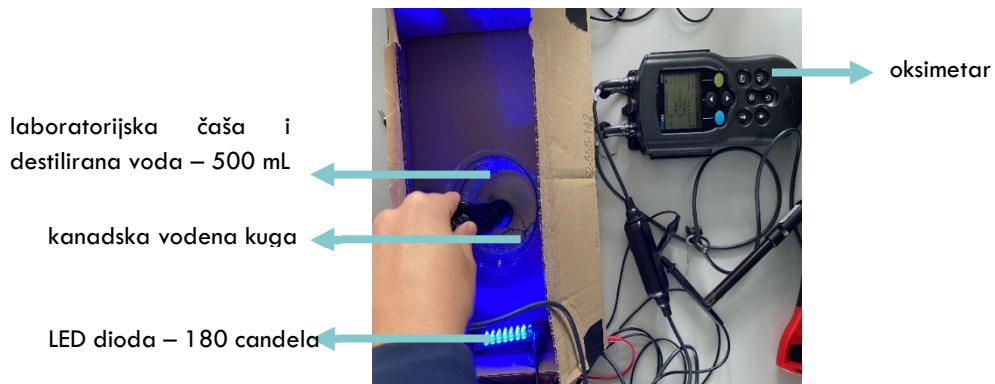
Eksperiment	Valna duljina svjetlosti/nm	Vrijeme izlaganja svjetlosti	Broj ponavljanja
Volumen kisika kontrolna grupa - oksimetar	280/470/520/665	1 h i 40 min	10
pH vrijednost		20 min	
Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviću		24 h	
Površina mjehurića kisika			

Mјerenja volumena proizvedenog kisika oksimetrom

U destiliranu vodu u laboratorijsku čašu od 500 mL je stavljena kanadska vodena kuga duljine 15 cm te izložena slijedom jednoj od 4 valnih duljina svjetlosti tijekom 1 h i 40 min (tablica 1). Mјerena je količina kisika u vodi oksimetrom svakih 10 minuta (slika 4).



Nakon svakog mjerjenja, biljka je stavljena u tamu tijekom 1 h i 40 min. Pokus je ponovljen 10 puta. Temperatura i tlak su bili konstantni (25 °C i atmosferski tlak) (BBC, 2020). Za mjerjenje temperature destilirane vode korišten je alkoholni termometar.



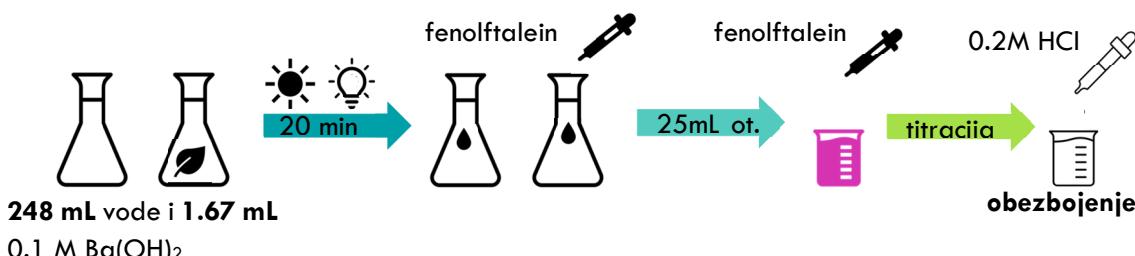
Slika 4 Eksperimentalni postav mjerena volumena proizvedenog kisika oksimetrom

Mjerjenje pH-vrijednosti otopine

U laboratorijsku čašu napunjenu s 500 mL destilirane vode je stavljena vodena kuga. Pomoću pH-metra (*Hanna pH Tester s 0,1 pH rezolucijom Checker® - HI98103*) mjerena je pH-vrijednost otopine neposredno prije i nakon izlaganja jednoj od 4 vrste izvora svjetlosti tijekom 1 h i 40 min (tablica 1). Pokus je ponovljen 10 puta, te se odvijao pri stalnoj temperaturi vode (25 °C) i atmosferskom tlaku.

Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču (Murtić, 2019)

Za ovu metodu potrebno je pripremiti 0,1 M otopinu barijeva hidroksida (Ba(OH)_2) te 0,2 M otopinu klorovodične kiseline (HCl) i po dvije kapi fenolftaleina kao indikatora (slika 8). U dvije Erlenmayerove tikvice dodano je 497 mL destilirane vode te 3,33 mL 0,1 M otopine Ba(OH)_2 . U jednu tikvicu je stavljena kanadska vodena kuga duljine 15 cm, te su obje začepljene i izložene 20 minuta jednoj od 4 vrste svjetlosti (tablica 1), na udaljenosti od izvora svjetlosti 10 cm i pokrivene kutijom kako bi LED dioda bila jedini izvor svjetlosti. Nakon izlaganja svjetlu iz tikvice je izvađena kanadska vodena kuga, te je u obje tikvice dodana kap fenolftaleina. Iz tikvica je odpipetirano po 50 mL otopine Ba(OH)_2 te je dodana još jedna kap fenolftaleina. Otpipetirane otopine su stavljene u čiste i suhe tikvice. Pripremljeni uzorci Ba(OH)_2 (aq) su titrirani s HCl (aq) do obezbojenja (slika 5). Titracija je nakon jednog izlaganja svjetlosti ponovljena 10 puta. Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču mjeri količinu apsorbiranog ugljikova (IV) oksida koja je ekvivalent količini proizvedenog kisika. Količina apsorbiranog ugljikovog (IV) oksida je jednak razlici utrošene klorovodične kiseline u tikvici izloženoj svjetlosti i kontrolnoj tikvici pomnožena s 4,4 što je broj miligrama ugljikova (IV) oksida jednaka 1 mL utrošene otopine 0,1 M klorovodične kiseline.



Slika 5 Shematski prikaz metode po Ivanovu i Kosoviču

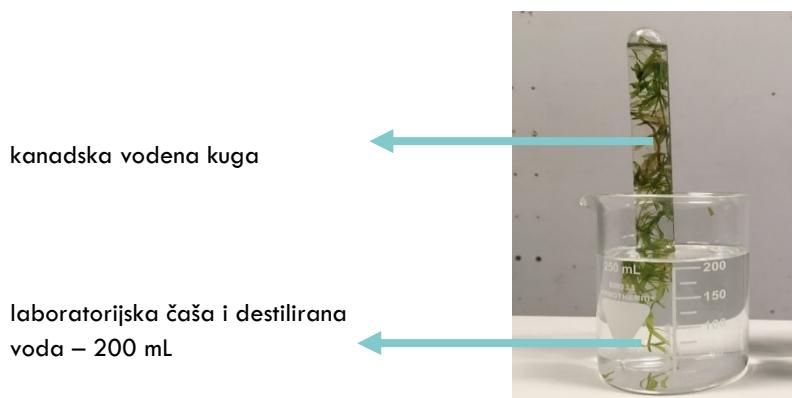


Mjerenje površine mjeđurića proizvedenog kisika

U laboratorijsku čašu od 100 ml ispunjenu destiliranom vodom, uronjena je i otvorom okrenuta prema dna čaše epruveta u koju je stavljena kanadska vodena kuga duljine 15 cm te izložena slijedom jednoj od 4 valnih duljina svjetlosti tijekom 24 h (tablica 1, slike 6 i 7).

Svaki mjeđurić kisika (slika 9) je fotografiran na početku eksperimenta te u intervalima svakih 12 sati, a površina mu je izmjerena u računalnom programu *ImageJ*-u.

Nakon svakog mjerenja, biljka je stavljena u tamu tijekom 8 h. Pokus je ponovljen 10 puta. Temperatura i tlak su bili konstantni (25 °C i atmosferski tlak) (BBC, 2020). Za mjerenje temperature destilirane vode korišten je alkoholni termometar.



Slika 6 Mjerenje površine mjeđurića



Slika 7 Izlaganje kanadske vodene kuge LED diodama



Slika 8 Kanadska vodena kuga



Slika 9 Izlaganje kanadske vodene kuge crvenoj svjetlosti

Statistička obrada rezultata

Rezultati su obrađeni tako što je od svih mjerenja uzeta aritmetička sredina te izračunato standardno odstupanje koristeći formulu:

$$\sigma_h = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (h_i - \bar{h})^2}{n(n-1)}}$$

gdje je „n“ broj članova niza, a „h“ su dobivene vrijednosti (Hrvatska enciklopedija, 2020).



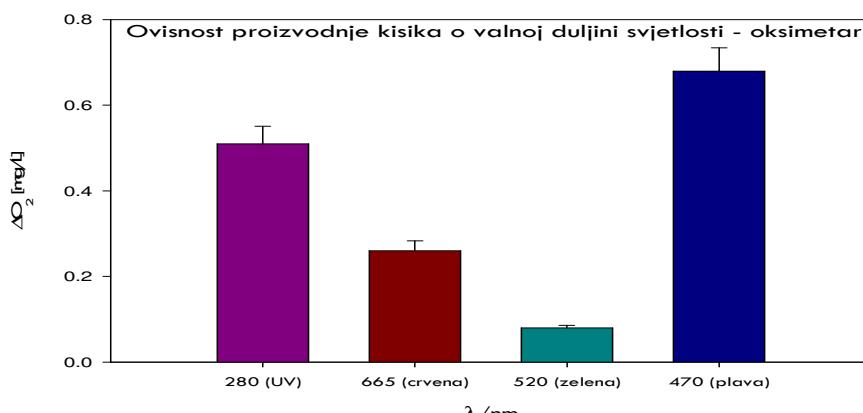
Izračunata je statistička značajnost koristeći formulu za Student t-test koja glasi:

$$t = \frac{(x_1 - x_2)}{\sqrt{\frac{(s_1)^2}{n_1} + \frac{(s_2)^2}{n_2}}}$$

gdje je „ x_1 “ aritmetička sredina prvog uzorka, „ x_2 “ aritmetička sredina drugog uzorka, „ s_1 “ standardna devijacija prvog uzorka, „ s_2 “ standardna devijacija drugog uzorka, „ n_1 “ veličina prvog uzorka i „ n_2 “ veličina drugog uzorka zatim je preko tablice određena p-vrijednost te je za statističku značajnost uzeta p vrijednost od 0.05 (Biology for life, 2020). Rezultati su prikazani grafički pomoću *SigmaPlot-a*.

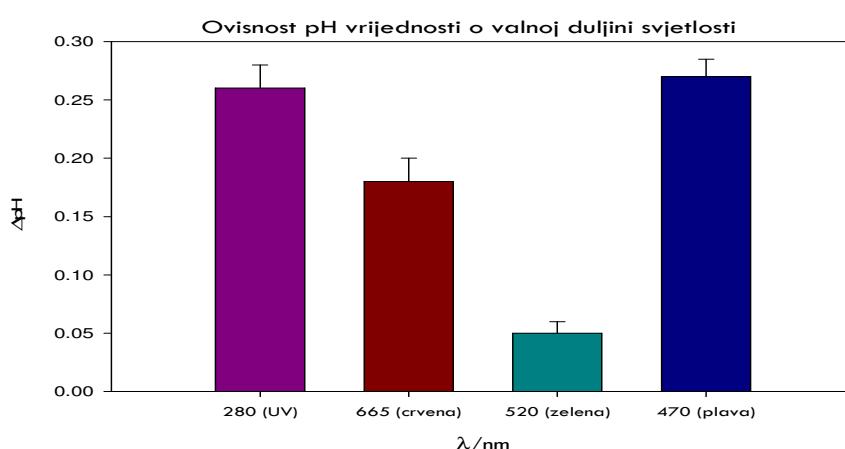
REZULTATI

Promjena količine kisika u mg/L tijekom fotosinteze izmjerena oksimetrom prikazana je grafom ovisnosti proizvodnje kisika o valnoj duljini svjetlosti (slika 10). Najviše kisika je proizvedeno pri valnoj duljini od 470 nm, a najmanje pri valnoj duljini od 520 nm. U usporedbi s valnom duljinom od 470 nm svi rezultati su statistički značajni.



Slika 10 Promjena kisika tijekom fotosinteze u mg/L izmjerena oksimetrom

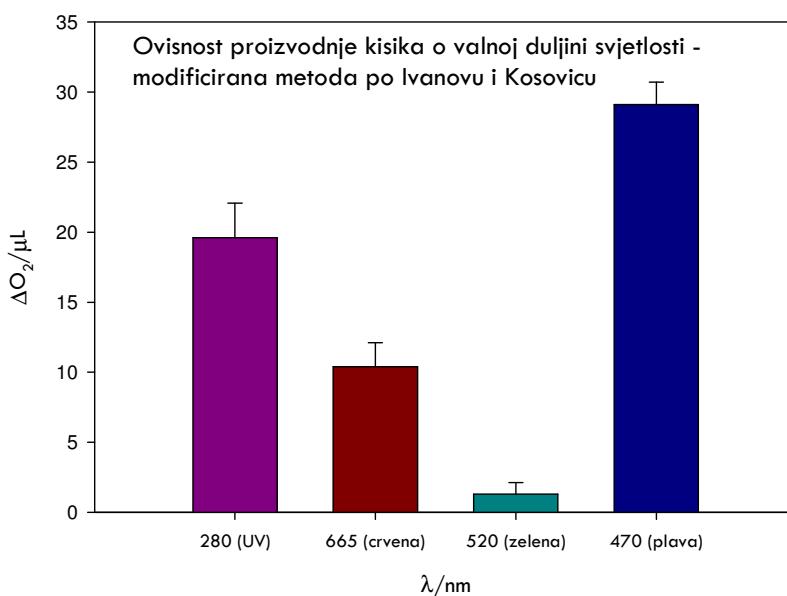
Mjerenjem pH-vrijednosti tijekom fotosinteze utvrđeno je da se najveća promjena pH-vrijednosti dogodila prilikom izlaganja valnoj duljini od 470 nm, a najmanja pri valnoj duljini od 520 nm (slika 14). Rezultati se poklapaju s mjeranjima oksimetrom (slika 11), ali u usporedbi s valnom duljinom od 470 nm nijedan od rezultata nije statistički značajan.



Slika 11 Promjena pH-vrijednosti prilikom izlaganja svjetlosti

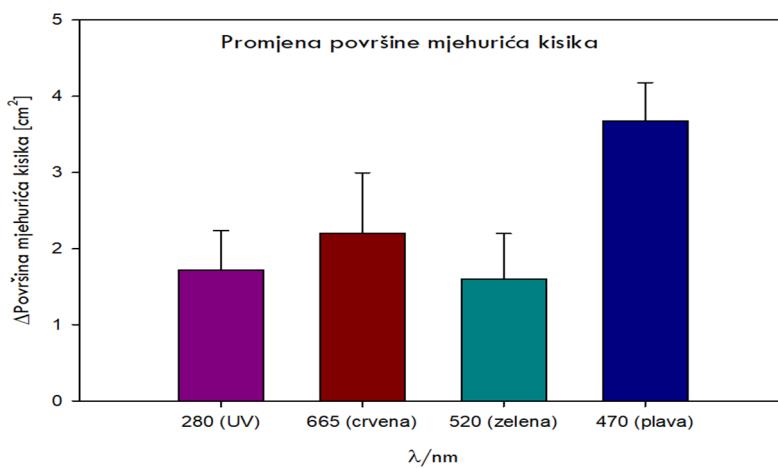


Mjerena količina kisika po modificiranoj metodi Ivanovu i Kosoviću prikazana je u mikrolitrama (slika 12). Najviše je kisika proizvedeno prilikom izlaganja valnoj duljini od 470 nm, a najmanje pri 520 nm. U usporedbi s valnom duljinom od 470 nm svi dobiveni rezultati su statistički značajni.



Slika 12 Količina proizvedenog kisika tijekom fotosinteze (modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviću)

Rezultati mjerjenja promjene površine proizvedenog mjeđuriča kisika prije i poslije fotosinteze (slika 13) pokazali su da je najviše kisika proizvedeno prilikom izlaganja valnoj duljini od 470 nm, a najmanje pri 520 nm. U usporedbi s valnom duljinom od 470 nm svi rezultati su statistički neznačajni.



Slika 13 Promjena površine mjeđuriča kisika

Tablično je prikazana usporedba metoda uzimajući u obzir srednju vrijednost standardnih devijacija, statističku značajnost i podudaranje količine kisika s oksimetrom (tablica 2). Rezultati dobiveni mjerjenjem pH vrijednosti nisu statistički značajni, ali količina proizvedenog kisika pod utjecajem različitih valnih duljina se podudara s oksimetrom. Rezultati dobiveni modificiranom metodom po Ivanovu i Kosoviću su statistički značajni i količina proizvedenog kisika pod utjecajem različitih valnih duljina se podudara s oksimetrom. Rezultati dobiveni mjerjenjem površine mjeđuriča kisika nisu



statistički značajni, ne podudaraju se s mjeranjima oksimetrom i imaju najveću srednju vrijednost standardnih devijacija.

Tablica 2 Usporedba metoda za određivanje količine kisika u vodi proizведенog tijekom fotosinteze

Metoda	Srednja vrijednost standardnih devijacija	P-vrijednost	Podudaranje rezultata s oksimetrom
Mjerenje pH vrijednosti	0,016 (9%)	>0,2	Da
Mjerenje površine mjehurića	1,34 (58%)	0,1 > p > 0,05	Ne
Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču	0,13 (21%)	<0,001	Da

RASPRAVA

U usporedbi s drugim vodenim biljkama, kanadska vodena kuga (*Elodea canadensis*) je specifična, jer proizvodi velike količine kisika tijekom fotosinteze (Britannica, 2020).

Analizom rezultata utvrđeno je kako pri valnoj duljini od 470 nm (plava svjetlost) kanadska vodena kuga proizvede najveću količinu kisika (0,68 mg/L) (slika 10) što potvrđuje prvu hipotezu. Osim što klorofil najviše apsorbira svjetlost valne duljinu od 470 nm, plava svjetlost ima veću energiju od crvene svjetlosti (665 nm) te zato klorofil prelazi na višu energetsku razinu i fotosintetizira intenzivnije. Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjem Muneer i sur. (2014) gdje je dokazano kako je fotosinteza najintenzivnija pod utjecajem plave svjetlosti. Pri valnoj duljini od 280 nm (UV svjetlost), količina proizvedenog kisika je značajno manja u usporedbi s valnom duljinom od 470 nm, što je i razumljivo ako uzmemos u obzir da, bez obzira što UV svjetlost ima veću energiju od bijele svjetlosti, klorofil više apsorbira valnu duljinu od 470 nm (slika 9). Rezultati se slažu s istraživanjem Pushnik i sur. (1987) gdje je dokazano da biljke više fotosintetiziraju pod utjecajem bijele svjetlosti u odnosu na UV. Prilikom izlaganja kanadske vodene kuge svjetlosti valne duljine od 665 nm količina proizvedenog kisika je bila značajno manja nego kad je bila izložena valnoj duljini od 280 ili 470 nm (slika 13). Kako omjer klorofila *a* i *b* varira ovisno o životnim uvjetima, a u apsorpciji valnih duljina, kao što je već spomenuto, je veća razlika između crvene i plave svjetlosti u klorofilu *b*, pretpostavljamo da je udio klorofila *b* u ovom uzorku kanadske vodene kuge bio veći. Za potvrdu ove pretpostavke trebala bi se napraviti analiza uzorka i odrediti količina pojedinog klorofila jer klorofil *a* također bolje apsorbira plavu svjetlost, iako u manjoj mjeri u usporedbi s klorofilom *b*. Najmanja količina kisika bila je proizvedena prilikom izlaganja biljke zelenoj svjetlosti tj. valnoj duljini od 520 nm, što potvrđuje drugu hipotezu (slika 10). Naime, klorofil odbija valne duljine zelene svjetlosti te je zato i apsorpcija (energije) valnih duljina zelene svjetlosti najmanja. Rezultati istraživanja se poklapaju s rezultatima istraživanja Muneer i sur. (2014) gdje je dokazano kako se u usporedbi s plavom svjetlosti fotosinteza pri zelenoj svjetlosti značajno smanji kod zelene salate *Lactuca sativa L.*

Radi usporedbe različitih metoda za mjerenje količine kisika proizведенog tijekom fotosinteze, uzeta je u obzir statistička značajnost, standardna devijacija i proizvedena količina kisika. Ti podaci dobiveni različitim metodama uspoređeni su s količinom kisika dobivenom mjerjenjem oksimetrom. Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču se najviše podudarala s mjernjima oksimetrom što potvrđuje četvrtu hipotezu (tablica 2; slike 10 i 12). Modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču mjeri količinu apsorbiranog ugljikova (IV) oksida koja je ekvivalent količini proizvedenog kisika (Murtić, 2019). U ovom eksperimentu bitna je i površina vodene kuge koja je bila u pokusu te bez obzira na to što su sve jedinke bile jednake duljine i imale približno istu površinu listova, površina nije bila identična



te je pretpostavka da su odstupanja pri ponavljanjima nastala zbog različitih površina jedinki. Mjerjenje površine mjehurića kisika se nije podudaralo s mjerjenjima oksimetra te su odstupanja pri ponavljanjima rezultata bila najveća od navedenih metoda (tablica 2; slike 10 i 13). Do toga je vjerojatno došlo, jer se mjehurići kisika zadržavaju na stijenkama epruvete ili na listovima. U mjerenu površine mjehurića pod utjecajem UV svjetlosti proizvela se manja količina kisika nego u ostalim metodama. Najvjerojatnije je do toga došlo zbog samog eksperimentalnog postava metode, jer je kanadska vodena kuga stavljena u staklenu epruvetu, a staklo filtrira UV svjetlost. Također, u ovoj metodi nije nađen način da se kvantitativno dokaže da je mjehurić koji je nastao čisti kisik, a ne npr. mješavina kisika i ugljikova(IV) oksida. U mjerenu pH vrijednosti otopine dobiveni rezultati su se poklapali s oksimetrom, ali nisu bili statistički značajni (tablica 2; slike 10 i 11). Pretpostavljamo da promjena pH vrijednosti nije vezana samo uz promjenu količine ugljikova (IV) oksida tj. kisika u vodi tijekom fotosinteze. Pri planiranju istraživanja, u obzir je uzeto da će se pH vrijednost povisiti tijekom fotosinteze, što se i dogodilo, te potvrđuje treću hipotezu (tablica 2; slike 10 i 11). To potvrđuje činjenicu da pH vrijednost ne ovisi samo o smanjenju količine ugljikova (IV) oksida u vodi nego i o drugim čimbenicima (Fondriest, 2021). Ipak, radi potvrde tog zaključka, ova metoda bi trebala biti provedena s više ponavljanja i preciznijim pH-metrom.

Rezultati su bili statistički značajni za modificiranu metodu po Ivanovu i Kosoviču i valne duljine u mjerjenjima oksimetrom, ali nisu statistički značajni za mjerena pH vrijednosti i površine mjehurića kisika, što ukazuje na to da su mjerene pH vrijednosti i mjehurića kisika tijekom fotosinteze neprecizne metode zbog relativno velikog raspona minimalne i maksimalne vrijednosti te standardne devijacije pri ponavljanjima (tablica 2).

U budućim istraživanjima bi bilo dobro uzeti druge vrste biljaka i veći broj različitih valnih duljina svjetlosti (npr. infracrvenu svjetlost). Također bi trebalo koristiti bijelu svjetlost kao kontrolnu skupinu. Bilo bi zanimljivo istražiti vremensku dinamiku proizvodnje kisika te pokušati utvrditi ovisnost intenziteta proizvodnje kisika o valnoj duljini svjetlosti tijekom različitih vremenskih intervala. U modificiranoj metodi po Ivanovu i Kosoviču, to bi se moglo utvrditi promjenom vremenskih intervala pri izlaganju tikvica s biljkama svjetlosti. Mogao bi se istražiti i utjecaj temperature, zamućenja vode, površine lista ili glukoze na količinu proizvedenog kisika tijekom fotosinteze.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ➊ najveću količinu kisika ($0,68 \text{ mg/L}$) kanadska vodena kuga proizvodi pod utjecajem svjetlosti od 470 nm (plava)
- ➋ najmanju količinu kisika ($0,14 \text{ mg/L}$) kanadska vodena kuga proizvodi pod utjecajem svjetlosti od 520 nm (zelena)
- ➌ pH vrijednost vode prosječno je viša za $0,19$ poslije fotosinteze
- ➍ modificirana metoda po Ivanovu i Kosoviču je najpreciznija pri uspoređivanju s rezultatima dobivenim oksimetrom

ZAHVALA

Željela bih zahvaliti Botaničkom vrtu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu na poklonjenoj kanadskoj vodenoj kugi za ovo istraživanje. Zahvaljujem se i svim profesorima koji su mi izišli u susret tijekom pisanja ovog rada, a ponajviše svojoj mentorici, prof. Dobronić.



LITERATURA

- BBC 2020. Photosynthesis, <https://www.bbc.co.uk/bitesize/guides/zq8nrwx/revision/5>, pristupljeno 24. 12. 2020.
- Biology for life 2020. T-test, <https://www.biologyforlife.com/t-test.html#>, pristupljeno 1. 1. 2021.
- Britannica 2020. Elodea, <https://www.britannica.com/plant/Elodea>, pristupljeno 10. 3. 2021.
- Fondriest 2021. Factors that Influence the pH of Water, <https://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/ph/#p7>, pristupljeno 10. 3. 2021.
- Hrvatska enciklopedija 2020. pH, <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=48063>, pristupljeno 24. 12. 2020.
- Hrvatska enciklopedija 2020. Standardna devijacija, <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=57758m>, pristupljeno 24. 12. 2020.
- Hogewoning W.S., Trouwborst G., Maljaars H., Poorter H., Leperen W.V., Harbinson J., 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany* 61: 3107-3117.
- Johkan M., Shoji K., Goto F., Hahida S., Yoshihara T., 2012. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. Central Research Institute of Electric Power Industry, Japan
- Lazarević B., Poljak M., 2019. Fiziologija bilja. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb
- Lukša Ž., Mikulić S., 2014. Život 3. Školska knjiga, Zagreb
- Muneer S., Kim E.J., Park J.S., Lee J.H., 2014. Influence of Green, Red and Blue Light Emitting Diodes on Multiprotein Complex Proteins and Photosynthetic Activity under Different Light Intensities in Lettuce Leaves (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences* 15: 4657-4670.
- Murtić S., 2019. Praktikum iz fiziologije biljaka. Sveučilište u Sarajevu, Sarajevo
- Pushnik C.J., Miller W.G., Jolley D.V., Brown C.J., Davis D.T., Barnes M.A., 1987. Influences of ultra-violet (UV)-blue light radiation on the growth of cotton. II. Photosynthesis, leaf anatomy, and iron reduction. *Journal of Plant Nutrition*, 10: 2283-2297.



ISPITIVANJE VAŽNOSTI RAZMJEŠTAJA SLOVA U RIJEĆIMA PRI ČITANJU TEKSTA NA POPULACIJI UČENIKA SREDNJE ŠKOLE

Nika Miličević, 2. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: *Romana Halapir Franković*

SAŽETAK

Motiv za provođenje istraživanja bio je interaktivni članak na internetu koji je sadržavao tekst s izmiješanim slovima. Tekst mi je, unatoč izmiješanim slovima, bio sadržajno razumljiv, što me potaklo na postavljanje pitanja kako mozak obrađuje tekst. Glavni cilj istraživanja bio je ispitati postoji li značajna razlika u obradi i razumijevanju pravopisno i gramatički točno napisanog teksta i teksta s nasumično izmiješanim slovima. U istraživanju je dobrovoljno sudjelovalo ukupno 243 ispitanika od 1. do 4. razreda gimnazije u Zagrebu. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine: kontrolnu i eksperimentalnu, a svaka skupina u 3 podskupine ovisno o broju knjiga koji godišnje pročitaju. Obje su skupine rješavale isti upitnik čitanja s razumijevanjem u digitalnom alatu *Google Forms* koji je bio sastavljen od teksta i osam pitanja višestrukog odabira. Eksperimentalna je skupina dobila tekst čije su riječi bile sastavljene od nasumično ispremiješanih slova, kako bi se zaključilo postoji li razlika u obradi različitih tekstova u mozgu. Za digitalni upitnik čitanja s razumijevanjem korištena je i aplikacija *Quilgo* za postavljanje automatiziranog mjeraca vremena i prikupljanje podataka o vremenu rješavanja. Ispitanicima iz 2.razreda mjerena je i prosječna brzina pročitanih riječi u minutu. Analizom prikupljenih podataka zaključeno je da su ispitanici kontrolne skupine prosječno uspješnije i brže rješili upitnik čitanja s razumijevanjem od ispitanika eksperimentalne skupine koji su čitali tekst s ispremiješanim. Čitatelji triju podskupina ispitanika koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje su postigli više bodova u kraće vrijeme na upitniku čitanja s razumijevanjem u usporedbi s „nečitateljima“ u istoj skupini. Utvrđeno je da djevojke prosječno pročitaju više knjiga godišnje nego mladići te da većina ispitanika pročita više od 5 knjiga godišnje. Kod ispitanika 2.razreda ustanovljeno je da velika brzina čitanja ne pomaže nužno pri razumijevanju sadržaja teksta.

Ključne riječi: brzina čitanja; čitanje s razumijevanjem; čitateljski sklopovi

UVOD

Čitanje predstavlja do danas još uvijek nedovoljno istražen i kompleksan proces razumijevanja tekstova. Taj proces je savršen dokaz plastičnosti i modeliranja mozga jer čitanje nije biološki urođeno čovjeku, već ga je on sam oblikovao (Dehaene, 2009). Ljudski mozak je specijalizirao vlastite neuralne stanice u strukturiranim sklopovima mozga da bi mogao čitati: kako bi došlo do čitanja, mora doći do automatizacije koja se u neuralnim mrežama na lokalnoj razini odvija brzinom svjetlosti (Wolf, 2019). Svaki put kad se prepozna jedno slovo, aktiviraju se specifični neuralni sklopovi u vidnom korteksu mozga koji potom podražuju mrežu jezično orientiranih skupina neurona i tako tvore zajedničku mrežu neurona. Ovi se sklopovi nasumično aktiviraju pri svakoj novoj ulaznoj informaciji te njihov rad do danas još uvijek nije temeljito istražen. Čitanje objedinjuje i aktivira obje polutke, četiri režnja u svakoj od njih te svih pet slojeva mozga (Wolf, 2019). Procesi čitanja su društveno-kulturno uvjetovani jer se čitanje uči već od najranijeg djetinjstva. Djeca usvajaju znanje jezika i grafičke znakove – slova. Kvaliteta uspješnog čitanja već na početku ovisi i o čitateljevu predznanju i upotrebi podataka koje tekst ne sadrži, nego ih čitateljev mozak prilaže na temelju prethodnih čitalačkih iskustava (Grosman, 2004). Pretpostavili bismo da je sada u 21. stoljeću, uz dobro razvijene ispitivačke metode te modernu tehnološku opremu, način na koji mozak obrađuje riječi istražen i poznat. Međutim, još uvijek postoji dilema psihologa i neuroznanstvenika oko toga gledamo li svaku riječ kao zasebnu cjelinu ili prepoznajemo velikom brzinom svako pojedinačno slovo koje zatim spajamo u smislenu riječ tijekom čitanja. Cattell (1886) i Huey (1908) među prvima su zauzeli stav da su riječi prepoznate kao cjelina. Dr. Graham Rawlinson (1976) sa sveučilišta u Nottinghamu svoj je doktorski rad napisao na temelju 16 izvedenih pokusa kojima je ispitao značaj položaja slova u prepoznavanju riječi. Rawlinson (1976) je zabilježio da se srednja slova u rijećima identificiraju uglavnom neovisno o položaju drugih slova u rijećima te da mozak može prepoznati riječi sastavljene od slova napisanih na pogrešnim mjestima.



Međutim, mnoga druga istraživanja pokazuju da uspješno čitanje ovisi o identificiranju svakog slova zasebno. Pelli i sur.(2003) u svojem su istraživanju dokazali da ljudi mogu čitati riječi onoliko dobro koliko mogu prepoznati pojedina slova. Rayner i sur. (2006) mjerili su pokrete očiju čitatelja dok su čitali rečenice u kojima su izmiješani parovi susjednih slova. Stopa čitanja (broj pročitanih riječi u minuti) smanjila se 11% za rečenice koje su sadržavale riječi s unutarnjim transpozicijama (premještanjima) slova za 36% kada su transpozicije bile na početku te 26% kada bile na kraju. Iz navedenih primjera jasno je da rasprava o tome čitamo li koristeći podatke iz pojedinih slova ili iz cijelih riječi još uvijek nije potpuno gotova. Problemi i poteškoće s istraživanjem čitanja brojni su, no čitatelji koji elegantnim pokretima očiju u zapanjujuće kratkom vremenskom roku pročitaju stranicu jedne knjige nisu ih uopće ni svjesni. Redovni čitatelji čitanje nikada ne bi opisali kao previše naporan ili zahtjevan proces jer su njime ovladali toliko dobro da mogu uživati u radnji djela i emocionalno se povezati s autorovim svijetom na stranicama. Razvoj čitateljskog mozga je iznimski fenomen i zanimljiva tema istraživanja jer se svakom novom metodom ispitivanja polagano približava detaljnijem upoznavanju neuronskih sklopova za čitanje. Kako bismo bolje upoznali i razumjeli promjene koje se događaju dok čitamo potrebno je više izazivati mozak, to jest davati mu složenije čitalačke zadatke. Mlađe generacije, odgajane u vremenu suvremene masovne digitalizacije i napredne tehnologije, izvorom zabave uglavnom smatraju sadržaje ekrana pametnih telefona i laptopa. Godine 2005. i 2006., na samom početku digitalizacije i popularizacije interneta, najpopularnije su izdavačke tvrtke kao *New York Times Company* i *Washington Post* morale najaviti preko 80% otkaza zaposlenicima (Keen, 2008). Suvremeni građani, pa tako i mladi, nažalost smatraju da se vjerodostojne informacije mogu pronaći na internetu i društvenim mrežama, zaboravljajući na svrhu knjižnica i kvalitetu knjiga.

Ovim radom želi se utvrditi hoće li ispitanici kontrolne skupine koja čita pravopisno i gramatički točno napisan tekst pri rješavanju upitnika čitanja s razumijevanjem imati u prosjeku veći broj bodova ostvaren u kraćem vremenskom roku od eksperimentalne skupine, odnosno postoji li statistički značajna razlika u rezultatima između te dvije skupine. Utvrdit će se hoće li ispitanici koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje, imati prosječno više bodova i brže čitati u odnosu na podskupine koje pročitaju manje knjiga. Za skupinu koja pohađa 2. razred ispitat će se hoće li ispitanici koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje imati prosječno veći broj pročitanih riječi u minuti u odnosu na ostale dvije podskupine, te utvrditi je li brzina čitanja važan čimbenik pri razumijevanju sadržaja teksta. Također, utvrdit će se čitaju li mladići manje od djevojaka i pročitaju li svi ispitanici prosječno manje od 5 knjiga godišnje.

Postavljene su slijedeće hipoteze: Ispitanici kontrolne skupine u prosjeku će brže i uspješnije rješavati upitnik čitanja s razumijevanjem s točno pravopisno napisanim tekstom od ispitanika eksperimentalne skupine koji čitaju tekst s izmiješanim slovima s tim da će ispitanici podskupine koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje biti najuspješniji.

Ispitanici koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje imat će prosječno veći broj pročitanih riječi u minuti, uz pretpostavku da se dobro snalaze pri čitanju nepoznatih tekstova, jer puno čitaju u slobodno vrijeme i imaju razvijena izvantekstualna iskustva. Također se pretpostavlja da djevojke u prosjeku pročitaju više knjiga godišnje nego mladići. Za ispitanike u cijelom istraživanju se pretpostavlja da većina njih pročita manje od 5 knjiga godišnje.



METODE

Istraživanje je provedeno na 236 učenika koji pohađaju 1. do 4. razred gimnazije u Zagrebu. Sudjelovale su 132 djevojke i 104 mladića. Svi ispitanici su u istraživanju sudjelovali dobrovoljno. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine: kontrolna (A) i eksperimentalna (B) skupina. U svakoj skupini bilo je 118 ispitanika.

Kako bi se utvrdilo postoji li razlika u brzini rješavanja i točnosti odgovora, svaka skupina podijeljena je na još tri podskupine: 1) podskupinu ispitanika koji godišnje pročitaju manje od 5 knjiga; 2) podskupinu koja pročita između 5 i 10 knjiga te 3) podskupinu koja pročita više od 10 knjiga. Ispitanici svake skupine prije rješavanja online upitnika trebali su označiti kojoj podskupini pripadaju.

Obje skupine A i B imaju isti zadatak: preko poveznice poslan im je tekst za čitanje s razumijevanjem napravljen u digitalnom alatu *Google Forms*. Materijali, odnosno upitnici pripremljeni su i rješavaju se u digitalnome obliku radi pandemijske situacije i higijenskih razloga. Uz alat *Google Forms* korišten je i alat *Quilgo* koji omogućava postavljanje mjerača vremena na upitnik te pohranu podataka o datumu, početku i kraju rješavanja upitnika od strane pojedinog ispitanika.

Na učenicima 2. razreda u školi je ispitivana i prosječna brzina pročitanih riječi u minuti kako bi se utvrdilo jesu li ispitanici koji čitaju brže uspješniji u razumijevanju teksta. U testu brzine čitanja sudjelovalo je 78 ispitanika 2. razreda. Svakom je ispitaniku po tri puta mjerena broj pročitanih riječi u minuti kako bi kasnije bila izračunata prosječna vrijednost. Pogrešno pročitane ili ponovljene riječi oduzete su od ukupnog broja pročitanih riječi. Ispitanici su čitali pravopisno i gramatički točno napisane ulomke iz lektire za 2. razred, *Maska Crvene smrti* E. A. Poe-a, prilagođene tom uzrastu.

Tekst čitanja s razumijevanjem preuzet je sa stranice *Learn English Teens*, preveden i prilagođen rješavanju na hrvatskom jeziku. Otvaranjem poveznice i odlaskom na upitnik pokrene se mjerač vremena potrebnog za rješavanje upitnika koje se automatski spremi. Ti podaci su bili potrebni za usporedbu brzina rješavanja upitnika pojedinih skupina i podskupina.

Koncept i sadržaj teksta za ispitivanje čitanja s razumijevanjem bili su jednaki za obje skupine, ali je eksperimentalna skupina rješavala upitnik u kojem su riječi imale izmiješan redoslijed slova (prilog 1). Ispod teksta nalazilo se osam pitanja višestrukog odabira odgovora u kojima je samo jedan od ponuđenih odgovora bio točan. Pitanja su bila vezana uz tekst i također su jednaka sadržajem i oblikom za kontrolnu i eksperimentalnu skupinu (prilog 2).

Prikupljeni rezultati razvrstani su u tablice prema skupinama i podskupinama. Tablično su prikazane srednje vrijednosti brzine rješavanja upitnika svih pripadnika pojedine skupine/podskupine čitatelja i „nečitatelja“, kao i prosječni rezultati kontrolne i eksperimentalne skupine. Udio čitatelja i „nečitatelja“ u svakoj istraživanoj skupini prikazan je grafički.

Za utvrđivanje je li razlika u vremenu i točnosti rješavanja zadatka između kontrolne i eksperimentalne skupine statistički značajna korištena je analiza varijacije ANOVA u programu Office Excel (Prilog 3).

REZULTATI

Nakon provedenog istraživanja rezultati čitanja s razumijevanjem obrađeni su i prikazani pojedinačno za svaki razred u tablicama od 1. do 4.



Tablica 1 Prosječni ostvareni bodovi i vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem za sve ispitanike 1. razreda

1. razred	skupine			
	kontrolna		eksperimentalna	
podskupine	vrijeme/min	bodovi	vrijeme/min	bodovi
manje od 5 knjiga/god.	13,28	5,88	15,33	4,83
5 do 10 knjiga/god.	8,59	6,06	13,11	5,86
više od 10 knjiga/god.	10,18	6,67	12,11	6,33

Iz tablice 1, koja prikazuje rezultate 1. razreda, vidljivo je da je u kontrolnoj skupini 3. podskupina ispitanika, koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje, ostvarila prosječno najveći broj bodova na upitniku čitanja s razumijevanjem (6,67) u najmanje vremena (10,18 minuta). Najmanje je bodova (4,83) u najviše vremena (15,33 minuta) ostvarila 1. podskupina ispitanika eksperimentalne skupine koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje. Vidljivo je da u svakom stupcu broj bodova raste s podskupinom, a vrijeme rješavanja pada, tako da su ispitanici 3. podskupine, koji čitaju više od 10 knjiga godišnje, riješili upitnik čitanja s razumijevanjem najuspješnije u najmanje vremena. Gotovo su isti omjeri rezultata vidljivi i u ostala tri razreda (tablice 2, 3, i 4)

Tablica 2 Prosječni ostvareni bodovi i vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem za sve ispitanike 2. razreda

2. razred	skupine			
	kontrolna		eksperimentalna	
podskupine	vrijeme/min	bodovi	vrijeme/min	bodovi
manje od 5 knjiga/god.	12,30	5,36	12,30	5,33
5 do 10 knjiga/god.	10,00	5,75	11,36	6,45
više od 10 knjiga/god.	9,13	6,67	10,27	6,18

Tablica 3 Prosječni ostvareni bodovi i vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem za sve ispitanike 3. razreda

3. razred	skupine			
	kontrolna		eksperimentalna	
podskupine	vrijeme/min	bodovi	vrijeme/min	bodovi
manje od 5 knjiga/god.	14,33	5,42	15,40	4,73
5 do 10 knjiga/god.	11,20	6,40	13,00	5,88
više od 10 knjiga/god.	10,30	6,90	12,11	6,40

Tablica 4 Prosječni ostvareni bodovi i vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem za sve ispitanike 4. razreda

4. razred	skupine			
	kontrolna		eksperimentalna	
podskupine	vrijeme/min	bodovi	vrijeme/min	bodovi
manje od 5 knjiga/god.	10,17	5,50	11,50	4,00
5 do 10 knjiga/god.	10,33	6,50	11,50	6,00
više od 10 knjiga/god.	10,33	6,50	11,11	6,13

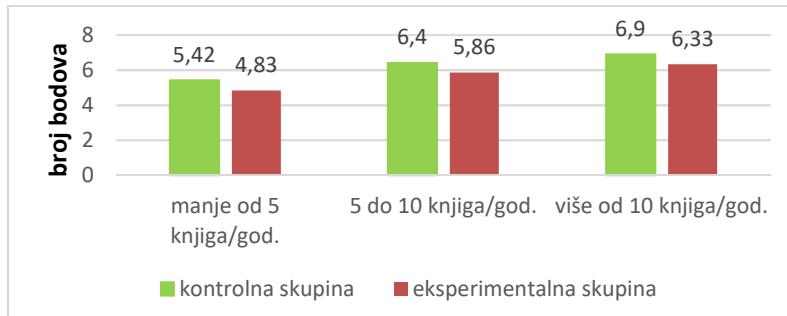
Iz tablice 5 vidljivo je da ispitanici koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje imaju prosječno veći broj pročitanih riječi u minuti nego ostale dvije podskupine, s time da je su ispitanici kontrolne skupine koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje imali najbolji rezultat (155,331 riječi u minuti).

Tablica 5 Prosječni brojevi pročitanih riječi u minuti za sve ispitanike 2. razreda

2. razred	Broj prosječno pročitanih riječi u minuti	
	skupine	podskupine
	kontrolna	eksperimentalna
manje od 5 knjiga/god.	155,31	152,09
5 do 10 knjiga/god.	145,96	150,73
više od 10 knjiga/god.	146,27	148,58

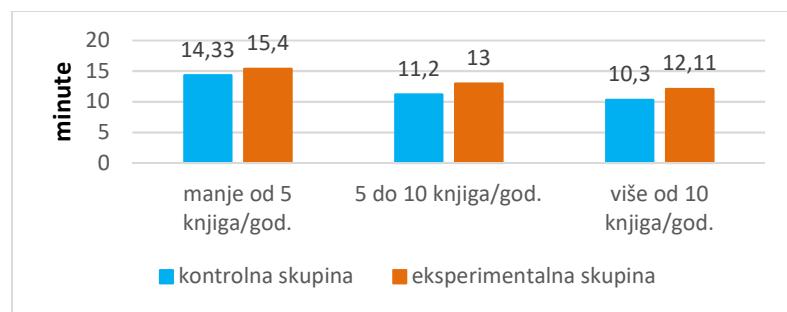


Na slikama 1 i 2 prikazane su razlike u vremenu rješavanja i ostvarenim bodovima između kontrolne i eksperimentalne skupine u 3. razredu.



Slika 1 Prosječne vrijednosti ostvarenih bodova za ispitanike 3. razreda

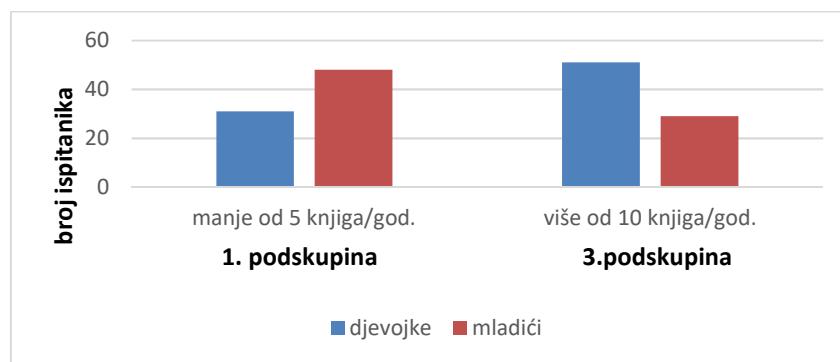
Razlika između kontrolne i eksperimentalne skupine najbolje se vidi u drugoj podskupini ispitanika koji godišnje pročitaju između 5 i 10 knjiga: ispitanici kontrolne skupine ostvarili su prosječno 6,4, a ispitanici eksperimentalne 5,86 bodova od mogućih 8.



Slika 2 Prosječno vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem za ispitanike 3. razreda

Vidljivo je da u sve tri podskupine ispitanicima eksperimentalne skupine trebalo prosječno više vremena za rješavanje upitnika od ispitanika kontrolne (slika 2). Primjerice, unutar treće podskupine ispitanika koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje ispitanici kontrolne skupine su bili gotovi za prosječno 10,33 minuta, a eksperimentalne za 12,11 minuta.

Usporedbom čitalačkih navika mladića i djevojaka istraživanje je pokazalo da veći broj djevojaka pročita više od 10 knjiga godišnje, dok veći broj mladića pročita manje od 5 knjiga godišnje (slika 3).



Slika 3 Udio mladića i djevojaka koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje (1. podskupina) i više od 10 knjiga godišnje (3. podskupina)



Slika 4 Ukupni udio ispitanika u istraživanju koji pročitaju manje od 5 i više od 5 knjiga godišnje

U proučavanom uzorku gimnazijalaca udio ispitanika koji godišnje pročitaju više od 5 knjiga (67%) je veći od onih koji čitaju manje od 5 knjiga (33%).

Statističkim ANOVA testom dobivene su statistički značajne razlike među testiranim skupinama za prosječno vrijeme rješavanja upitnika i ostvarene bodove. Rezultati obrađeni ANOVA testom mogu se proglašiti statistički značajnim ako je vrijednost $F_{kritično} > F$, što za rezultate ovog istraživanja vrijedi. Te su vrijednosti označene žutom bojom (tablice 5 i 6).

Tablica 5 ANOVA test za rješavanje čitanja s razumijevanjem za kontrolnu i eksperimentalnu skupinu, vrijeme rješavanja (razlika je statistički značajna ako je F kritično $> F$)

ANOVA						
Izvor varijacije	SS	df	MS	F	p-vrijednost	F kritično
Između grupe	8,120	1	8,120	2,751	0,111	4,301
Unutar grupe	64,939	22	2,952			
Ukupno	73,059	23				

Tablica 6 ANOVA test za rješavanje čitanja s razumijevanjem za kontrolnu i eksperimentalnu skupinu, ostvareni bodovi (razlika je statistički značajna ako je F kritično $> F$)

ANOVA						
Izvor varijacije	SS	df	MS	F	p-vrijednost	F kritično
Između grupe	1,256	1	1,256	2,774	0,109	4,301
Unutar grupe	9,959	22	0,453			
Ukupno	11,215	23				

RASPRAVA

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je razumijevanje teksta s izmiješanim slovima u riječima bilo otežano, ali ne i nemoguće. Prosjek ostvarenih bodova ispitanika kontrolne skupine, koji su rješavali pravopisno i gramatički točno napisan upitnik čitanja s razumijevanjem, veći u svim razredima od 1. do 4. za sve podskupine (koje su se razlikovale po broju pročitanih knjiga) od prosječno ostvarenih bodova ispitanika eksperimentalne skupine svih podskupina, što potvrđuje našu hipotezu. ANOVA testom dokazano je da su razlike u broju ostvarenih bodova između kontrolne i eksperimentalne skupine statistički značajne.

Kontrolne skupine iz sva 4 razreda koje su čitale pravopisno i gramatički točno napisan upitnik, rješile su ga u prosječno kraćem vremenu nego eksperimentalne, što također potvrđuje našu hipotezu. Ispitanici eksperimentalne skupine koji su čitali tekst s izmiješanim slovima u riječima, rješavali su ga dulje jer im je bilo teže koncentrirati se na sadržaj teksta, budući da su morali prepoznavati značenje



pojedinačnih izmiješanih riječi. Razlika se i u ovom slučaju pokazala statistički značajnom. Naši rezultati pokazali su da se brzina čitanja teksta s pomiješanim slovima smanjila u prosjeku za 14 % što se djelomično poklapa s istraživanjem Raynera i sur. (2006) u kojem je utvrđeno da se brzina čitanja teksta s pomiješanim slovima smanjila za 11%. To je u skladu s drugim istraživanjem u kojem je preko mjerena pokreta očiju i matematičkih izvoda dokazano da ljudi mogu dobro čitati riječi samo ako mogu prepoznati pojedina slova (Pelli, 2003).

Prema postavljenoj hipotezi, rezultati upitnika i vrijeme rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem trebali bi bili obrnuto proporcionalni broju knjiga koji ispitanici pročitaju te je očekivano da ispitanici koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje trebaju mnogo više vremena za čitanje, dok oni koji čitaju više od 10 knjiga godišnje trebaju manje vremena i bolje rješavaju upitnik. Rezultati ispitanika iz 2. i 3. razreda potpuno se poklapaju s postavljenom hipotezom. U 4. razredu su prosječni rezultati ispitanika u 2. i 3. podskupini ispitanika koji čitaju između 5 i 10 te više od 10 knjiga godišnje jednaki (6,5 bodova). Drugim riječima, ispitanici koji su se izjasnili da čitaju 5 do 10 knjiga godišnje imaju prosječno jednak stupanj razumijevanja teksta kao skupina ispitanika koji čitaju više od 10 knjiga godišnje. Takav rezultat možda možemo objasniti nedostatkom motivacije u maturanata za sudjelovanjem u eksperimentu. U 1. razredu u kontrolnoj skupini zabilježeno je različito vrijeme za rješavanje upitnika: podskupina koja pročita 5-10 knjiga godišnje bila je gotova za prosječno 9 minuta, dok je 3. koja pročita više od 10 godišnje završila za 10,18 minuta. Unatoč razlici u vremenu podskupina koja čita više od 10 knjiga godišnje ima bolji prosječan rezultat (6,67 bodova) od podskupine koja čita između 5 i 10 knjiga godišnje (6,06 bodova).

Uzveši u obzir sve navedeno, rezultati se poklapaju s početnom hipotezom da ispitanici koji pročitaju veći broj knjiga imaju bolje rezultate. Slovenska autorica djela *U obranu čitanja*, Meta Grosman (2004), također ističe da djeca koja se od malih nogu upoznaju s čitanjem te ga nastave njegovati odrastanjem imaju istaknute vještine i predznanja potrebna za susret s bilo kakvim zadanim tekstom jer im je čitanjem analiza različitih djela postala prirodan proces. Profesorica južnoslavenskih jezika i poredbene lingvistike Anita Peti-Stantić (2019) u svojem djelu prikazuje kako djeca koja puno čitaju tijekom godina automatizirano nadograđuju svoju sposobnost obrade i interpretacije bilo kojeg književnog djela koje obrađuju u školi te zbog toga raspolažu boljim vještinama od vršnjaka koji ne čitaju.

Ispitanicima 2. razreda mjerena je prosječan broj pročitanih riječi u minuti. Rezultati su neočekivani jer u obje skupine podskupina koja pročita više od 10 knjiga godišnje ima manji broj prosječno pročitanih riječi u minuti nego ostale dvije podskupine, s time da ispitanici koji čitaju manje od 5 knjiga godišnje imaju najveći broj prosječno pročitanih riječi u minuti. Ispitanici koji puno čitaju bili su značajno bolji u rješavanju upitnika s razumijevanjem teksta, ali nisu pročitali više riječi u minuti nego ispitanici koji ne čitaju mnogo, što je suprotno postavljenoj hipotezi. Brzina čitanja je ključan čimbenik čiji je utjecaj na akademske rezultate mnogo jači od ostalih. Pokazalo se da postoji i optimalna brzina: od 120 do 150 riječi u minuti. Smatra se da se tim tempom postiže optimalno razumijevanje teksta (Školski portal, 2019). Ako je brzina čitanja pretjerana, razumijevanje se pogoršava, a ako je smanjena tad je potrebno pročitati tekst ponovno za sadržajno razumijevanje. Iz rezultata (tablica 5) je vidljivo da su prosječne brzine čitanja ispitanika koji čitaju više od 5 knjiga godišnje unutar optimalne, dok kod ispitanika koji



čitaju manje od 5 knjiga godišnje odskaču od optimalne brzine čitanja (155 i 152). Time se može objasniti činjenica da su imali manji broj bodova na upitniku koji je ispitivao razumijevanje teksta.

Naše istraživanje pokazalo je da djevojke čitaju više od mladića (slika 3), što je u skladu s našom hipotezom i istraživanjem drugih znanstvenika (Stanić i Jelača, 2017).

U cijelom istraživanju, udio ispitanika koji čitaju između 5 i 10 ili više od 10 knjiga godišnje je značajno veći (67%) od broja ispitanika koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje (33%). Ispitanici gimnazije su se izjasnili da pročitaju većinu lektira tijekom školske godine te da čitaju tijekom ljeta, što premašuje 5 knjiga godišnje. Istraživanja čitalačkih navika u Hrvatskoj koje je provela Nacionalna i sveučilišna knjižnica 2019. Godine pokazuju da je u Hrvatskoj 42% građana pročitalo barem jednu knjigu u zadnjih godinu dana, što je zabrinjavajuće jer je čitanje iznimno važno za razvoj svih kognitivnih sposobnosti (Jutarnji list, 2019). Broj čitatelja, prema istraživanjima, svake godine je sve manji i na tome bi se u obrazovnom sustavu u školama moralо poraditi.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da postoji statistički značajna razlika pri čitanju teksta s izmiješanim slovima i pravopisno točno napisanog teksta, no oni su suprotni istraživanjima koja navode zaključak da mozak riječi čita kao cjelinu (Larson, 2006). Primjerice, jedna od teza kojom se Larson služi kako bi dokazao da se riječi čitaju kao cjelina je „efekt superiornosti riječi“, koji je prvi opisao Raymond Cattell: prepoznavanje cijele riječi brže je i djelotvornije od prepoznavanja pojedinog slova (<https://www.ukessays.com/essays/psychology/what-effect-does-word-superiority-have-psychology-essay.php>). Neuroznanstvenik S. Dehaene velik dio svojih istraživanja posvetio je upravo procesima čitanja i neuralnim temeljima čitanja. U njegovoj knjizi(2009) nalazimo specifično poglavlje *Mit o čitanju cijelih riječi* u kojem se suprotstavlja tezama K. Larsona da mozak može automatski prepoznati svaku riječ. Dehaene navodi da je taj efekt zaista točan, no ne smatra ga dokazom da se riječi gledaju kao cjelina. Rad Pellija (2003) pokazao je da su prepoznavanja slova u riječima ključno za njeno razumijevanje, a ako se na cijelu riječ reagira brže, razlog tomu je velika „uvježbanost“ čitateljskog mozga i sposobnost neurona da automatski prepoznaju neke česte riječi. Stoga se u riječima sastavljenima od različitijih slova razlike na višim razinama obrade pojačavaju (Ahissar i Hochstein, 2004). Prema Dehaeneu (2009) neosporno je da se slova raščlanjuju i zatim ponovno spajaju kako bi čitateljski mozak došao do razumljive i smislene riječi, uz slučajeve da se pojedine često korištene riječi mogu odmah prepoznati. U slučaju da se riječi obrađuju kao cjeline, ne bi postojala značajna razlika između čitanja teksta u kojem su riječi pravopisno točno napisane i teksta s izmiješanim slovima u riječima. U ovom je istraživanju potvrđeno da će postojati značajna razlika u točnosti i vremenu rješavanja upitnika čitanja s razumijevanjem među različitim skupinama od kojih jedna čita tekst s izmiješanim slovima. Potvrđeno je također da izvježbani mozak koji čita više knjiga lakše i brže prepozna riječi s izmiješanim slovima.

Bilo bi zanimljivo istražiti mogu li osobe s disleksijom uspješno pročitati tekst s izmiješanim slovima. Kompleksnije istraživanje moglo bi se provesti na slijepim osobama kako bi se ispitalo mogu li one uspješno pročitati riječi s ispremiješanim slovima u Brailleovom pismu.

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja mogu se donijeti slijedeći zaključci:



- ⌚ Ispitanici kontrolne skupine u prosjeku su uspješnije i brže rješavali upitnik čitanja s razumijevanjem od ispitanika eksperimentalne skupine kojima je bilo potrebno više vremena za rješavanje upitnika čitanja s razumijevanjem, jer su čitali tekst koji sadrži riječi s izmiješanim slovima.
- ⌚ Razlike u ostvarenom broju bodova i vremenu rješavanja čitanja s razumijevanjem pri čitanju pravopisno i gramatički točno napisanog teksta i teksta s izmiješanim slovima su statistički značajne.
- ⌚ Ispitanici podskupine koji godišnje pročitaju više od 10 knjiga neovisno o razredu rješili su upitnik čitanja s razumijevanjem u prosječno najkraćem vremenskom roku i ostvarili prosječno najveći broj bodova na upitniku.
- ⌚ Ispitanici 2. razreda koji čitaju manje od 5 knjiga godišnje pročitali su prosječno veći broj riječi u minuti od ostalih dviju podskupina ispitanika koji čitaju više od 5 knjiga godišnje u testu brzine čitanja teksta, no nisu ostvarili veći broj bodova na upitniku čitanja s razumijevanjem.
- ⌚ Brzina čitanja teksta nije nužno čimbenik za postizanje boljeg razumijevanja sadržaja teksta.
- ⌚ U podskupini ispitanika koji pročitaju manje od 5 knjiga godišnje veći je udio mladića, a u podskupini ispitanika koji pročitaju više od 10 knjiga godišnje veći je udio djevojaka.
- ⌚ Većina ispitanika u istraživanju pročita između 5 i 10 ili više od 10 knjiga godišnje.

ZAHVALA

Želim od srca zahvaliti osobama bez kojih nastanak ovog znanstvenog rada ne bi bio moguć. Prvenstveno zahvaljujem svojoj mentorici na neizmernoj požrtvovnosti, predlaganju ideja i satima ispravljanja rada. Zahvaljujem svojim priateljima, suučenicima i svim ispitanicima istraživanja na predanoj suradnji te vremenu koje su nesobično izdvojili za čitanje i razumijevanje kviza čitanja s razumijevanjem. Zahvaljujem najboljim prijateljicama Dori, Kim, Sari i Leoni na velikoj podršci i potpori, ocu na posuđivanju laptopa za obradu podataka te iznimnim knjižničarkama na pomoći u odabiru prikladne literature.

LITERATURA

- Ahissar M., Hochstein S. 2004. The reverse hierarchy theory of visual perceptual learning. *Trends in Cognitive Sciences* 8 (10): 457-464.
- Cattell, J. M. 1886. The time taken up by cerebral operations. *Mind*, 11(43): 377-392.
- Deheane S. 2009. Čitanje u mozgu: Znanost i evolucija ljudskog izuma. Algoritam, Zagreb.
- Grosman, M. 2004. U obranu čitanja: Čitatelj i književnost u 21. stoljeću. Algoritam, Zagreb.
- Jutarnji list. 2019. Rezultati istraživanja: Koliko Hrvati čitaju knjige. <https://www.jutarnji.hr/kultura/knjizevnost/koliko-hrvati-citaju-knjige-najnoviji-podaci-su-razocaravajuci-zabiljezen-je-ogroman-pad-danas-su-televizijske-serije-postali-romani-novog-doba-8773556>, pristupljeno 11. 3. 2021.
- Školski portal. 2019. Utječe li brzina čitanja na akademski uspjeh djeteta. <https://www.skolskiportal.hr/sadrzaj/savjeti-strucnjaka/utjece-li-brzina-citanja-na-akademski-uspjeh-djeteta/>, pristupljeno 11. 3. 2021.
- UKessays. 2018. What effect does the word superiority have? <https://www.ukessays.com/essays/psychology/what-effect-does-word-superiority-have-psychology-essay.php>, pristupljeno 10. 3. 2021.
- Huey, E. B. 1908. The psychology and pedagogy of reading. Macmillan, New York.
- Keen, D. 2008. Complex Emergencies, Cambridge: Polity
- Larson K., Hazlett R. L., Chaparro B. S., Picard R. W. 2007. Measuring the Aesthetics of Reading. In: Bryan-Kinns N., Blanford A., Curzon P., Nigay L. (eds) People and Computers XX — Engage. Springer, London.
- Pelli, D. G., Farell, B., Moore, D.C. 2003. The remarkable inefficiency of word recognition. *Nature* 423: 752-756.
- Peti-Stantić A. 2019. Čitanjem do (spo)razumijevanja: Od čitalačke pismenosti do čitalačke sposobnosti. Naklada Ljevak, Zagreb.
- Rawlinson, G. E. 1976. The significance of letter position in word recognition. Unpublished PhD Thesis, Psychology Department, University of Nottingham, Nottingham UK.
- Rayner K., White S. J., Johnson R. L., Liversedge S. 2006. Reading words with jumbled letters; There is a cost. *Psychological Science* 17(3): 192-193.
- Stanić, S., Jelača, L. (2017). Društveni kontekst čitanja i knjige: mišljenja i stavovi učenika. *Školski vjesnik*, 66 (2), 180-198.
- Preuzeto s <https://hrcak.srce.hr/187030>



Steffense, M.S., Joag - Des, C., Anderson, R.C. 1979. A cross-cultural perspective on reading comprehension. *Reading Research Quarterly* 15: 10 -29.

Wolf, M. 2019. Čitatelju, vrati se kući. Naklada Ljekavak, Zagreb.

Stranica s koje je preuzet i preveden tekst čitanja s razumijevanjem:

<https://learnenglishkids.britishcouncil.org/skills/reading/intermediate-b1-reading/adventure-travel>

Digitalni mjerac vremena za upitnike u Google Forms-u: <https://quiglo.com/>

Alat kojim su se nasumično izmiješala slova u tekstu eksperimentalne skupine: <https://www.dcode.fr/typoglycemia-generator>

Videozapis koji je služio kao predložak za računanje statistički značajne vrijednosti u programu Office Excel:

<https://www.youtube.com/watch?v=nmHFFpOVZs>

PRIZLOZI

Prilog 1 Slike 5 i 6 prikazuju pravopisno i gramatički točno napisan tekst čitanja s razumijevanjem za kontrolnu te tekst s izmiješanim slovima za eksperimentalnu skupinu.

Čitanje s razumijevanjem - grupa A

Pročitajte tekst i riješite zadatke. Sretno!

Vrijeme je za avanturu: egzotična putovanja

Želite li ove godine provesti najbolje praznike u životu? Pogledajte naš uzbudljivi niz praznika i odlučite koju biste vrstu avanture željeli.

Aktivni praznici

Naši aktivni praznici namijenjeni su svima, od ljubitelja sporta do onih željnih adrenalina i opasnosti. Imamo ogromnu ponudu praznika na vodi, snijegu ili pustinji. Vodit ćemo vas na ronjenje u Crveno more ili na vožnju kajakom u Kanadi. Ako više volite snijeg, možete probati skijanje u Alpama ili čak izgraditi iglu. Onima koji više vole topilje krajeve nudimo obilazak safarija s devama u Arabiji.

Polarne ekspedicije

Krenite krstarenjem do Antarktike ili sjevernog Arktika; istražite zemlju bijele prirode ljepote i divnog divljeg svijeta. Naši će stručnjaci objasniti sve o dva pola dok gledate pingvine na Antarktiku ili kitove i polare medvjede na Arktiku. Nema veće avanture od putovanja na krajeve zemlje!

Kulturna putovanja

Naš paket kulturnih putovanja omogućuje otkrivanje drevnih civilizacija: Indije, Tajlanda, Egipta i mnogih drugih. Posjetite hramove, palače i drevnih ruševina - ne zaboravite ponijeti fotoaparat! Upoznajte kulturu i običaje gradova istraživanjem lokalnih tržnica, isprobavanjem egzotične hrane i obilaskom povijesnih muzeja.

Pješačke ture

Pješačimo na poznata mjesta kao što su Machu Picchu ili gorja Škotske. Ne trebate biti prilično sportski tip, samo u dobroj formi. Zabavit ćete se uživajući u prirodi sa skupinom novih prijatelja. Neki od praznika uključuju kampiranje, ali mi ćemo vam prenijeti šatore!

Safari parkovi

Organiziramo ture za male grupe kako bismo se približili prirodi u Africi, Aziji ili Južnoj Americi. Obidite lavove i žrade na safariju u Africi! Upoznajte kornjače s Galapagosom! Posjetite tigrove u Indiji ili safari sa slonovima na Šri Lanki! U pratnji smo lokalnih vodiča te noćimo u šatorima i kućicama na drvetu.

*Obavezno

Slika 5 Tekst čitanja s razumijevanjem za kontrolnu grupu

Čitanje s razmijeđnjajem - grupa B

Pročitajte tekst i riješite zadatke. Sretno!

Vrijeme je za avanutra: egoistična putovanja

Želite li ove godine provesti najbolje praznike u životu? Počujte naš uzbudljivi niz parznika i odlučite koju biste vrstu avnute željeli.

Aktivni parznici

Nisi aktiven praznici namijenjeni su svima, od ljubitelja sporta do onih željnih adrenalina i opasnosti. Imamo ogromnu ponudu parznika na vodi, snijegu ili pustinji. Vodit ćemo vas na ronjenje u Crveno more ili na vožnju kajaka u Kina. Ako vise vole snijeg, mžote počrti siatkije u Alpama ili čak izgraditi iglu. Onima koji vise vole tijelo kjerjive nudimo obilazak safarija s djevama u Arapskoj.

Poalne ekspedicije

Krenite kačerstrnjem do Antarktike ili sjevernog Arktika; isatrižte zemlju bijele pliordne leptoje i divnog dievija sivejta. Naši će stručnjaci objasniti sve o dva pola dok gledate pingvine na Antarktiku ili krvne i plone mideevje na Arktiku. Nima vise aavunre od putovanja na krajeve zmjeje!

Kulturna putovanja

Naš paket kulturnih putovanja omogućuje otkrivanje drevnih civilizacija: Indije, Tajlanda, Egipta i mnogih drugih. Poštejte hramove, palače i drevnih ruševina - ne zaobavite ponijeti fotografi! Uopoznajte kulturu i običaje gađova i aisaetrnjim koinaln tržnica, iosaepbrvnim eozgčne harne i oiaobolskim pojvejsnih muezija.

Pješčake true

Pejščimo na poznata mjesta kao što su Mcahu Picchu ili groba Šoktske. Ne trebate biti prilično sportski tip, samo u dobroj formi. Zabavit ćete se uživajući u prirodi sa skupinom novih prijatelja. Neki od praznika uključuju kampiranje, ali mi ćemo vam prenijeti šatore!

Safariprkovi

Organiziramo true za milne grupe kamo bismo se približili prirodi u Africi, Aziji ili Jezero Amrceli. Obidite lavove i žarde na safariju u Africi! Upoznajte kornjače s Galapagosom! Posejte tigrove u Indiji ili safar sa slivooma na Šri Lanki! U pratnji smo lokalnih vodiča te noćimo u šatorima i kućicama na dervtu.

E-adresa *

Valjana e-adresa

Ovaj obrazac prikuplja e-adrese. Promjena postavki

Slika 6 Tekst čitanja s razumijevanjem s izmiješanim slovima za eksperimentalnu grupu



Prilog 2

Slike 7. a-d prikazuju 8 pitanja višestrukog odabira u upitniku čitanja s razumijevanjem za obje skupine

<p>a) Gdje se mogu vidjeti životinje? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Na polarnim ekspedicijama, pješačkim rutama i na kulturnim putovanjima <input type="radio"/> Na kulturnim putovanjima, u safari parkovima <input type="radio"/> Na pješačkim turama <input checked="" type="radio"/> Na aktivnim praznicima, u safari parkovima i na polarnim ekspedicijama <input type="radio"/> U safari parkovima, na pješačkim turama 	<p>c) Koji praznici nude planinarenje? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Pješačke ture <input type="radio"/> Polарne ekspedicije i aktivni praznici <input checked="" type="radio"/> Aktivni praznici i pješačke ture <input type="radio"/> Polare ekspedicije
<p>b) Koji praznici nude kampiranje? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Pješačke ture i polarne ekspedicije <input type="radio"/> Aktivni praznici i safari parkovi <input type="radio"/> Polare ekspedicije, kulturna putovanja i aktivni praznici <input checked="" type="radio"/> Pješačke ture i safari parkovi 	<p>d) Za koje bi vam sve praznike trebala posebna odjeća i obuća? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Za kulturna putovanja i safari parkove <input type="radio"/> Polare ekspedicije, kulturna putovanja i aktivne praznike <input checked="" type="radio"/> Aktivne praznike, polare ekspedicije i pješačke ture <input type="radio"/> Polare ekspedicije i aktivne praznike

Slika 7a Prvi dio pitanja

Slika 7b Drugi dio pitanja

<p>e) Koji praznik zahtijeva dobru formu? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Kulturna putovanja <input type="radio"/> Safari parkovi <input checked="" type="radio"/> Pješačke ture <input type="radio"/> Polare ekspedicije 	<p>g) Koje su karakteristike kulturnih putovanja? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Posjet Škotskoj i kampiranje <input checked="" type="radio"/> Učenje o stranim kulturama i isprobavanje egzotične hrane <input type="radio"/> Pratnja turističkog vodiča i kampiranje <input type="radio"/> Vožnja kajakom i isprobavanje raznih sportova <input type="radio"/> Upoznavanje lokalnih ljudi i vožnja kajakom
<p>f) Koje su karakteristike aktivnih praznika? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Učenje o stranim kulturama i isprobavanje egzotične hrane <input type="radio"/> Posjet Škotskoj i kampiranje <input type="radio"/> Pratnja turističkog vodiča i kampiranje <input checked="" type="radio"/> Vožnja kajakom i isprobavanje raznih sportova 	<p>h) Koje su karakteristike pješačkih tura? *</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Upoznavanje lokalnih ljudi i vožnja kajakom <input type="radio"/> Učenje o stranim kulturama i isprobavanje egzotične hrane <input type="radio"/> Pratnja turističkog vodiča i kampiranje <input type="radio"/> Vožnja kajakom i isprobavanje raznih sportova <input checked="" type="radio"/> Posjet Škotskoj i kampiranje

Slika 7c Treći dio pitanja

Slika 7d Četvrti dio pitanja



PROCJENA ŠTETNOG DJELOVANJA UMJETNIH ZASLAĐIVAČA NA BAKTERIJU *Serratia marcescens*

Luka Klemen, 3. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Mirela Zenko Ivić

SAŽETAK

U ovom radu ispitivano je akutno toksično djelovanje četiriju vrsta umjetnih zasladičavača, aspartama, natrijevog ciklamata, saharina i kalijevog acesulfama, na obojenost bakterijskih kultura bakterije *Serratia marcescens*. Uzgojene bakterijske kulture tretirane su otopinama umjetnih zasladičavača u četiri razrjeđenja (1:1, 1:100, 1:1000, 1:10000, početna koncentracija = 400 g/L) i u tri paralelne serije. Uzorci s bakterijskim kolonijama fotografirani su mobitelom prije i poslije tretiranja otopinama umjetnih zasladičavača. Uzgojene bakterijske kulture crvene su boje zbog mogućnosti stvaranja pigmenta prodigiosina, no tretiranjem otopinama umjetnih zasladičavača gube tu mogućnost te postaju bijele boje. Pomoću matematičko-informatičkog programa slike su analizirane te su prebrojani crveni pikseli prije i poslije tretiranja umjetnim zasladičavcima. Takvom analizom dobičen je udio bakterija koje su promijenile boju. Rezultati su pokazali da se za svaki zasladičić udio bakterija koje su promijenile boju u najvećem razrjeđenju kreće 5 – 10 %, a za najmanje razrjeđenje iznad 20 %. Svi odabrani umjetni zasladičaviči izazvali su promjenu boje tretiranih bakterijskih kultura *Serratia marcescens* i tako ukazali na svoju moguću toksičnost.

Ključne riječi: *sladila, prodigiosin, toksičnost*

UVOD

Zasladičaviči su prirodne ili umjetno dobivene tvari koje zamjenjuju šećer te imaju znatno veću slatkoću, no puno manju kalorijsku vrijednost. Umjetni zasladičaviči koriste se za povećanje slatkoće hrane. U prehrambenoj industriji najčešće se proizvodi aspartam, a poznati su zasladičaviči i natrijev ciklamat, saharin i kalijev acesulfam (Pešut, 2018).

Aspartam je bijeli prah bez mirisa koji je gotovo 200 puta sladji od saharoze (Stamp i Labuza, 1989). Po kemijskom je sastavu metilni ester asparaginske kiseline. Zanimljivo je da je slučajno otkriven pri sintezi lijeka za čir na želucu. Štetno djeluje na kožu i sluznicu dišnoga sustava pri direktnom dodiru, odnosno udisaju (Stegink, 1984).

Saharin je prvo kemijski sintetizirano sladilo koje je 400 - 500 puta sladje od šećera saharoze (Stamp i Labuza, 1989). Prvobitno se dobivao iz toluena, ali danas se proizvodi kemijskom sintezom iz o-klortoluena ili iz ftalne kiseline (Sheffield i Roby, 1950). Hrana kojoj je dodano ovo sladilo može poprimiti gorki do metalni okus. Nema nikakvu energetsku vrijednost, a često se rabi u kombinaciji s ostalim umjetnim sladilima. Iako se smatra bezopasnim, u istraživanjima je nakon konzumacije saharina kod pokusnih životinja uočena pojava raka mokraćnog mjehura i štitnjače. Sladilo je 1977. godine u SAD-u bilo zabranjeno, no vraćeno je u uporabu 1991. godine uz uvjet da na ambalaži proizvoda bude istaknuto odgovarajuće upozorenje potrošačima (Stamp i Labuza, 1989).

Natrijev ciklamat umjetno je sladilo koje je svega 30 - 50 puta sladje od saharoze te ga to čini komercijalno najmanje upotrebljivim. Isto tako, jedan je od najjeftinijih zasladičavača. Vrlo je stabilan na visokoj temperaturi, a u industriji se najčešće koristi s drugim sladilima (najpoznatija je smjesa saharina i Na-ciklamata u omjeru 10:1). Počevši od sredine 20. stoljeća njegova je uporaba postajala sve veća, ali i zabrinutost oko njegove sigurnosti. Prošavši mnoga sigurnosna ispitivanja, on je danas odobren u više od 130 zemalja, no njegova uporaba zabranjena je u SAD-u i Južnoj Koreji zbog potencijalnog kancerogenog djelovanja na mokraćni sustav (Taylor i sur., 1968)



Kalijev acesulfam sintetički je zaslađivač otkriven 1967. godine. Oko 200 puta sladi je od saharoze (gotovo jednako kao i aspartam) te poput saharina ima blago gorak okus te se često miješa s drugim zaslađivačima (obično aspartatom). Nema nikakvu kaloričnu (energetsku) vrijednost. Po kemijskom je sastavu 6-metil-1,2,3-oksiatiazin-4 kalijeva sol. Kao i kod drugih umjetnih sladila istraživanja su ukazala na njegovu štetnost (Stohs i Miller, 2014).

Svi navedeni umjetni zaslađivači čvrste su tvari bijele boje u obliku sitnog praha te su vrlo dobro topljivi u vodi. Važno je spomenuti da se saharin najčešće koristi u proizvodnji bombona, pića, lijekova te paste za zube, a kalijev acesulfam, natrijev ciklamat i aspartam (pojedinačno ili pomiješano) u proizvodnji žvakačih guma, slatkiša raznih vrsta, proteinskih te mliječnih napitaka (Pešut, 2018).

U ovom projektu ispitivana je akutna toksičnost (štetnost) četiriju vrsta umjetnih zaslađivača. Toksičnost je svojstvo neke tvari da ima štetan utjecaj na živa bića ili na okoliš. Koliko je neka tvar opasna, nije lako definirati jer njezina otrovnost ovisi o brojnim okolišnim čimbenicima (načinu, količini i učestalosti izlaganja) te o samom organizmu i njegovim individualnim fiziološkim čimbenicima (Turk, 2018). Toksičnost može biti uzrokovana kemijskim, fizikalnim ili biološkim parametrima ili njihovom kombinacijom. Razvijeno je mnogo metoda utvrđivanja biološke toksičnosti kao što su testovi na bakterijama, algama, biljkama, ribama i beskraltešnjacima. Toksičnost se najčešće iskazuje kraticama doza ili koncentracija koje uzrokuju štetno djelovanje u određenom dijelu populacije (Foglar, 2013). Svrha je testova toksičnosti da se procjeni koncentracija toksikanta koja je letalna za 50 % organizama određene vrste unutar određenog vremenskog razdoblja ili je štetna odnosno inhibirajuća za 50 % ispitivanih organizama, a definira se kao srednja letalna koncentracija LC50, odnosno EC50. Prema trajanju trovanja razlikuje se 24-satna LC50 ili 96-satna LC50 itd. (Korunić-Kočina i sur., 2003). Kod testnih organizama, osim smrtnosti kao najagresivijeg oblika djelovanja, moguće je analizirati patološke promjene na organskim sustavima, poremećaje fizioloških i biokemijskih reakcija, reproduktivne i genetičke promjene, promjene u ponašanju te mnoge druge, ovisno o tipu studije. Testovi toksičnosti na živim organizmima (*in vivo*) provode se u laboratorijima na točno određenim modelima i u dobro kontroliranim procesima. Vrsta testnog organizma odabire se prema potrebama i ciljevima eksperimenta (Turk, 2018). Kada govorimo o bakterijama kao testnim organizmima, često se istražuje utjecaj umjetnih zaslađivača na crijevnu floru čovjeka pa se tako u istraživanju koje je predstavljeno na godišnjem sastanku Europskog udruženja za proučavanje dijabetesa (EASD) u Lisabonu u Portugalu 2018. godine navodi da umjetni zaslađivači mogu promijeniti tjelesni odgovor na glukozu kada se konzumiraju u velikim količinama, a mogao bi se povećati rizik od razvoja dijabetesa tipa II (SMC, 2021).

Serratia marcescens Gram-negativna je bakterija iz porodice enterobakterija. Fakultativno je aerobna i fakultativno patogena. Najčešće se nalazi u tlu gdje razgrađuje organske spojeve, na biljkama i životinjama te na vlažnim i toplim područjima. Također, ružičasto crvene nakupine kolonija te bakterije mogu se naći na prehrambenim proizvodima ili u kupaonici, jer hranjive tvari dobiva iz ostataka mrtve kože, ulja, sapuna i sl. (Gillen i Gibbs, 2011). *S. marcescens* lako se uzgaja u laboratoriju i može poslužiti kao model za genomske promjene koje dovode do patogenosti. Tako se istraživanja mogu provesti promatranjem i analizom vidljive karakteristike bakterije - crvene obojenosti uzrokovane stvaranjem pigmenta prodigiosina. Metabolički putovi koji sudjeluju u proizvodnji prodigiosina brojni su i složeni pa bi mutacije koje utječu na bilo koji od ovih puteva mogle rezultirati gubitkom proizvodnje pigmenta (Gillen i Gibbs, 2011). U laboratoriju može rasti pri sobnoj temperaturi od 26 °C, gdje neke vrste



razvijaju karakterističan pigment cigleno crvene boje te pri temperaturi od 37 °C, kada su njezine kolonije kremasto-bijele te na toj temperaturi ne proizvodi pigment. To predstavlja fiziološku fenotipsku varijaciju stimuliranu temperaturom. Ova je karakteristika jedinstvena jer nijedna druga vrsta porodice *Enterobacteriaceae* nije u stanju to učiniti (Thpanorama, 2021).

Zdravstveni rizici konzumacije umjetnih zaslađivača i dalje su vrlo kontroverzna tema. Umjetna sladila navodno su povezana sa štetnim učincima poput raka, debljanja, metaboličkih poremećaja, migrene, dijabetesa tipa II, vaskularnih poremećaja, prijevremenih porođaja, poremećaja funkcije bubrega, antioksidativnog sustava jetre, hepatotoksičnosti, poremećaja imunološkog sustava i promjene crijevne flore čovjeka (Harpaz i sur., 2018). Umjetna sladila identificirana su i kao zagađivači okoliša. Otporni su na procese pročišćavanja otpadnih voda, stoga se kontinuirano uvode u podzemne, površinske i pitke vode. U konačnici se postavlja pitanje zašto ustrajemo u korištenju umjetnih sladila iako su štetna.

Cilj istraživanja ispitati je djelovanje različitih koncentracija aspartama, natrijevog ciklamata, saharina i kalijevog acesulfama na obojenost bakterijskih kultura bakterije *Serratia marcescens*. Sukladno istraživanjima autora Harpaz i sur. (2018) te Borojević i sur. (2017) početna je hipoteza da će kolonije bakterije *Serratia marcescens* na temperaturi nižoj od 27 °C na hranjivoj podlozi stvarati crveni pigment prodigiosin dok im se ne dodaju različite otopine umjetnih zaslađivača kada njihova sposobnost sinteze crvenog pigmenta prestaje pa će kolonije izblijedjeti u bijelu boju. Tom vidljivom promjenom moguće je odrediti koliki je postotak kolonije bakterija izgubio pigment, a time i procijeniti toksičan učinak umjetnih zaslađivača na odabranu bakteriju. Pretpostavljeno je da će pri nižim koncentracijama umjetni zaslađivači imati manje toksičan učinak na obojenost bakterijskih kultura nego pri većim koncentracijama ispitivanih zaslađivača.

METODE

Početni uzorak bakterijske kulture *Serratia marcescens* doniran je od Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar (slika 1), gdje je bakterija i identificirana. Čuvanjem u termostatu u školskom laboratoriju te precjepljivanjem na svježu podlogu osigurana je dovoljna količina soja ove bakterije za istraživanje. Inkubacija bakterija odvijala se pri 26 °C. Ukoliko se bakterija ne inkubira u povoljnim uvjetima, postoji mogućnost da se ne sintetizira crveni pigment prodigiosin (Stilinović i Hrenović, 2009). Većina sojeva *S. marcescens* crvena je ispod 27 °C i bijela iznad 28 °C. Proizvodnja pigmenta i bičeva zaustavlja se na 28 °C (Gillen i Gibbs, 2011). U tom slučaju izvedba pokusa ne bi bila moguća jer očitavanje i analiza rezultata ovise o vizualnoj promjeni crvenog pigmenta u bijelu boju. Budući da Knapp (2020) tvrdi da proizvodnja pigmenta kod ove bakterije ovisi o mnogo čimbenika kao što su temperatura, hranjivost medija za uzgoj te pH-vrijednost medija u kojem se nalazi te količina UV zračenja, treba naglasiti da se pri rukovanju s bakterijom izrazito pazilo na ujednačenost uvjeta uzgoja da bi se crveni pigment očuvao.



Slika 1 Početni uzorak *S. marcescens*



Kao pozitivna kontrolna skupina korištena je jedna Petrijeva zdjelica s bakterijskom kulturom bez dodataka umjetnih zaslađivača. Bakterijska kultura bila je izložena tri minute UV svjetlu valne duljine 270 - 280 nm, snage 800 LM. Opisana pozitivna kontrola korištena je jer se očekivao pozitivan ishod koji je trebao ukazati na tijek eksperimenta, tj. teza je bila da će pod UV svjetlom zasigurno doći do štetnog djelovanja na živi organizam te se očekivalo znatno smanjenje crvene pigmentacije. Negativnu kontrolnu skupinu čine tri Petrijeve zdjelice s bakterijskim kulturama na koje nisu naneseni ispitivani uzorci umjetnih zaslađivača, a tijekom pokusa tretirane su jednakom količinom kao i uzorci izloženi djelovanju otopina umjetnih zaslađivača. Opisana negativna kontrola korištena je da bi se ukazalo na pravilnost rezultata dobivenih eksperimentalnom skupinom jer je očekivano da u negativnoj kontroli, koja je tretirana u istim uvjetima kao eksperimentalna, ali bez uzorka umjetnih zaslađivača, neće doći do znatnog smanjenja proizvodnje crvenog pigmenta.

Istraživački rad u cijelosti je izrađen u školskom laboratoriju. Za metodu rada odabrana je modificirana bioluminiscentna metoda (DIN 38 412-L34) za koju Borojević i sur. (2017) navode da je metoda za određivanje biološke toksičnosti otpadnih voda pomoću svjetlećih bakterija. Mjeranjem intenziteta emitirane svjetlosti moguće je utvrditi svako oštećenje bakterijskog metabolizma nastalog kao posljedica djelovanja toksične tvari. Mjerena je luminiscencija bakterijske suspenzije prije i poslije dodavanja otopine ispitivane tvari. Postotak inhibirane kulture predstavlja os ordinatu na grafu toksičnosti otopine određene ispitivane tvari dok je na apscisi logaritam koncentracije ispitivane otopine.

Modifikacija bioluminiscentne metode učinjena je u: odabiru test organizma (odabrana je *Serratia marcescens*), vremenu trajanja testa toksičnosti (odabran je 96-satni vremenski period prema EPA, 2018 i Korunić-Košćina, M. i sur., 2003), odabiru zavisne varijable (mjerena je promjena obojenosti bakterijskih kultura umjesto intenziteta luminiscencije), načinu analize podataka (umjesto instrumenta koji mjeri jačinu luminiscencije koristi se metoda fotografiranja i obrada fotografija u programu Matlab), pripremi temeljnih standardnih otopina umjetnih zaslađivača i radnih otopina. Raspon koncentracija odabran za uzorce umjetnih zaslađivača temelji se na FDA prihvatljivom dnevnom unosu (ADI). ADI se izražava kao miligram ispitivane tvari po kilogramu tjelesne težine dnevno (mg/kg tjelesne težine/dan). ADI korištenih umjetnih zaslađivača iznosi: kalijev acesulfam (15), aspartam (50), saharin (15) i natrijev ciklamat (5) (Harpaz i sur. 2018.).

Priprema hranjive podloge

Hranjiva podloga za održavanje čiste kulture pripremljena je otapanjem sastojaka iz Tablice 1 u destiliranoj vodi uz zagrijavanje do vrenja. Zbog jednostavnosti pripreme i dostupnih kemikalija odabrana je neselektivna LB hranjiva podloga. Zagrijavanje se provodi u vodenoj kupelji. Hranjiva podloga sterilizirana je 15 minuta na 121 °C. Sterilizirana hranjiva podloga ohlađena je na 45 °C i izlivena u sterilizirane Petrijeve zdjelice u sloj maksimalne debljine 0,5 cm. Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom čuvane su u hladnjaku na 4 °C (Stilinović i Hrenović, 2009).

Tablica 1 Sastav Laura Bertani hranjive podloge

Kemikalije	Molekulska formula	Čistoća	Proizvođač	masa/g
Agar	C ₁₄ H ₂₄ O ₉	p.a.	Dinkelberg	5
Kvaščev ekstrakt	C ₁₉ H ₁₄ O ₂	p.a.	Dinkelberg	10
Natrijev klorid	NaCl	p.a.	Kemika	5
Tryptone		p.a.	Dinkelberg	15
Destilirana voda	H ₂ O			Do 1000 mL



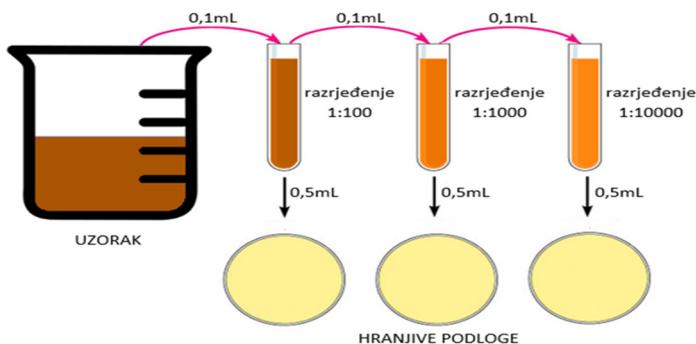
Priprema temeljnih standardnih otopina i radnih otopina umjetnih zaslađivača

Temeljna standardna otopina umjetnih zaslađivača masene koncentracije 400 g/L pripremljena je otapanjem 20 g svakog pojedinog zaslađivača u destiliranoj vodi u sterilnim mjernim tikvicama od 50 mL (tablica 2).

Tablica 2 Sastav standardnih i radnih otopina ispitivanih umjetnih zaslađivača

Umjetni zaslađivač	Odvagana masa/ 50 mL H ₂ O	Razrjeđenje /masena koncentracija γ /g/L			
Aspartam	20,00g	1:1 400 g/L	1:100 4 g/L	1:1000 0,4 g/L	1:10000 0,04 g/L
Ciklamat	20,00g	400 g/L	4 g/L	0,4 g/L	0,04 g/L
Saharin	20,00g	400 g/L	4 g/L	0,4 g/L	0,04 g/L
Kalijev acesulfam	20,00g	400 g/L	4 g/L	0,4 g/L	0,04 g/L
Paralelni uzorci		3 ponovljena uzorka za svaki zaslađivač			

Od četiriju standardnih otopina metodom serijskog razrjeđenja pripremljene su radne otopine umjetnih sladila za ispitivanje (slika 2). Mjerna nesigurnost pripreme uzorka za ispitivanje umanjena je izradom triju paralelnih uzoraka za svaki umjetni zaslađivač (ukupno 48 uzoraka bakterijskih kultura ne uključujući kontrolne skupine).



Slika 2 Postupak razrjeđivanja otopina

Precjepljivanje bakterijske kulture

Primjenjena je sterilna tehnika rada koja podrazumijeva rad uz upaljeni plamenik na površini očišćenoj etanolom (anisolom, antiseptikom). Eza koja se koristi spaljena je u unutrašnjem plamenu, a zatim cijelom dužinom užarena u vanjskom dijelu plamena. Sav pribor nalazio se u neposrednoj blizini plamenika, a sve su radnje bile brze da bi mogućnost kontaminacije bila što manja (Stilinović i Hrenović, 2009). Steriliziranim ezom dotaknut je već uzgojeni uzorak bakterije. Bakterijska je kultura precjepljena na novu podlogu. Precjepljene bakterijske kulture stavljene su u termostat na temperaturu od 26 °C u trajanju 48 sati.

Na bakterijske kulture odpipetirano je po 0,5 mL ispitivane otopine pripremljenih masenih koncentracija (tablica 2). Bakterijske kulture stavljene su u termostat na temperaturu od 26 °C u trajanju 96 sati.

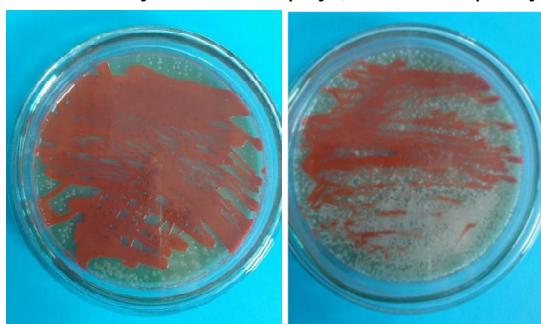


Uzorci s bakterijskim kolonijama fotografirani su mobitelom neposredno prije i poslije tretiranja otopinama umjetnih zaslađivača. Fotografiranje se odvijalo u istim uvjetima – udaljenost od kamere i centriranost na slici bila je identična, a pazilo se i da svjetlost bude jednaka. Mobitel je bio pričvršćen na hvataljku koja je bila postavljena na metalnom stativu iznad Petrijeve zdjelice.

Fotografije su analizirane u računalnom programu *Matlab*. Analizom vrijednosti boje svakog piksela na prvoj i drugoj fotografiji moguće je odrediti postotak promjene obojenosti bakterijskih kultura u kojima je pretpostavljeno da je došlo do inhibicije proizvodnje crvenog pigmenta. Iz krivulje toksičnosti moguće je utvrditi EC₅₀ i tako procijeniti toksičnost ispitivanih umjetnih sladila.

REZULTATI

Slika 3A prikazuje uzorak bakterijske kulture prije, a Slika 3B poslije izlaganja UV svjetlu.



Slika 3 Uzorak kontrolne skupine prije izlaganja UV svjetlu (A); Uzorak kontrolne skupine nakon izlaganja UV svjetlu (B)

Negativnu kontrolnu skupinu čine tri Petrijeve zdjelice s bakterijskom kulturom u koje nisu naneseni ispitivani uzorci umjetnih zaslađivača. Objedinjeni rezultati pozitivne i negativne kontrole prikazani su u tablici 3.

Tablica 3 Udio bakterija koje su izgubile crveni pigment u pozitivnoj i negativnoj kontroli izražen u postocima dobiven analizom fotografija uzorka u računalnom programu Matlab

	KONTROLNI UZORAK	Udio bakterija koje su izgubile crveni pigment / %
NEGATIVNA KONTROLA	Uzorak 1	1,12
	Uzorak2	0,99
	Uzorak 3	1,24
	Srednja vrijednost udjela bakterija koje su izgubile crveni pigment	1,12
POZITIVNA KONTROLA	Uzorak 4	59,91

Pozitivna kontrolna skupina izložena UV svjetlosti imala je najveći udio bakterija koje su izgubile crvenu boju od 59,91 % što se vrlo jasno vidi i sa slika 3A i 3B. Negativna kontrola imala je pak najmanji određeni udio bakterija koje su promijenile boju svega 0,99 - 1,24 % zajedničke srednje vrijednosti 1,12%

U tablici 4 prikazan je primjer serije rezultata dobivenih tretiranjem bakterijskih kultura pripremljenim otopinama aspartama.

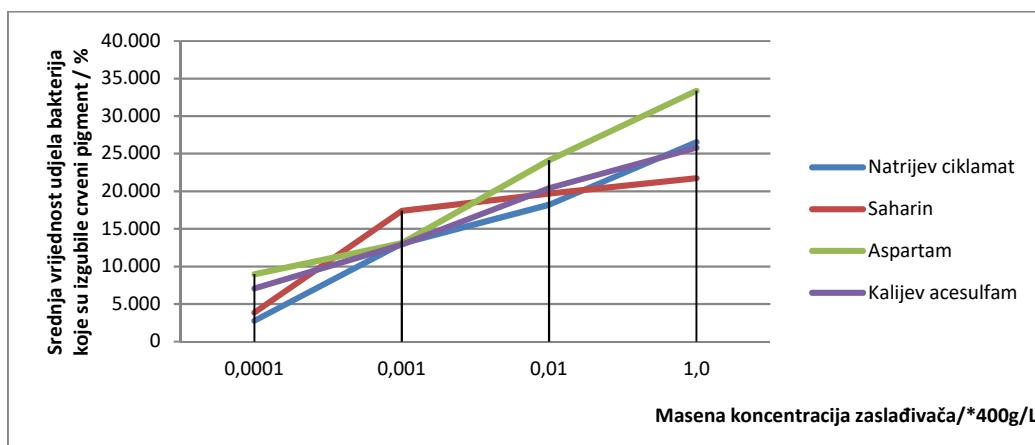
Iz tablice 4 vidljivo je da je pri najvećem razrjeđenju prisutna najveća crvena obojenost bakterijske kulture koja se postupno smanjuje povećanjem koncentracije aspartama.



Tablica 4 Fotografije tretiranih bakterijskih kultura pripremljenim otopinama aspartama.

Koncentracija zaslađivača*400g/L	Prije dodavanja uzorka aspartama	Nakon dodavanja uzorka aspartama
1:1		
1:100		
1:1000		
1:10 000		

S obzirom da ne postoje literaturni podatci za toksičnost ispitivanih umjetnih zaslađivača u odnosu na *Serratia marcescens* u zadanim uvjetima, uzorci umjetnih zaslađivača uspoređuju se međusobno. Slika 4 prikazuje objedinjene rezultate dobivene nakon izlaganja bakterijskih kultura pripremljenim otopinama umjetnih zaslađivača.



Slika 4 Udio bakterija koje su izgubile crveni pigment ovisno o koncentraciji ispitivanih otopina umjetnih zaslađivača

Najveći udio bakterija koje su izgubile crveni pigment uzrokovala je otopina aspartama (razrjeđenja 1:1) u kojoj je srednja vrijednost udjela bakterija koje su izgubile crveni pigment iznosila oko 35 % što je znatno više nego ostali zaslađivači. Također, u otopinama najvećeg razrjeđenja otopina aspartama



(1:10000) ponovno ima najveći udio mutiranih bakterija u odnosu na ostale zaslađivače - gotovo 10 %. Za svaki zaslađivač udio bakterija koje su promijenile boju u najvećem razrjeđenju kreće se 5 – 10 %, a za najmanje razrjeđenje iznad 20 %.

Grafički prikaz sa slike 4 ukazuje da gotovo svi zaslađivači imaju linearan rast udjela mutiranih bakterija u odnosu na porast koncentracije ispitivane otopine. U manjoj mjeri odudaraju rezultati kada je korišten saharin gdje je vidljivo da je udio bakterija koje su izgubile crveni pigment nešto manji pri najmanjem razrjeđenju, no odmah naglo raste. Pri razrjeđenju saharina 1:1000 udio bakterija koje su izgubile crveni pigment veći je u usporedbi s udjelima koje su izazvali ostali zaslađivači, no u konačnici saharin najmanje inhibira proizvodnju crvenoga pigmenta.

EC50 za ispitivane umjetne zaslađivače u odnosu na inhibiciju proizvodnje crvenog pigmenta nije određena zbog nemogućnosti konstrukcije krivulje toksičnosti iz dobivenih parametara.

RASPRAVA

U ovom istraživanju utvrđeno je da je u pozitivnoj kontrolnoj skupini bio najveći postotak bakterija koje su izgubile crveni pigment. Gillen i Gibbs (2011) navode da kada su uzorci *S. marcescens* bili izloženi ultraljubičastom svjetlu 15 sekundi, smrtnost bakterija bila je 40 - 75% (bez bijelih mutanata). Kada su bili izloženi 30 sekundi, smrtnost je bila 75 - 90% (neki bijeli mutanti), a kada su bili izloženi 120 i 180 sekundi, smrtnost je bila 95 - 99% (brojni bijeli mutanti). Iako bakterijska kultura u ovom radu nije izlagana UV svjetlu tijekom različitih vremenskih perioda, može se uočiti da je inhibicija crvenog pigmenta upravo najveća u uzorku pozitivne kontrole.

U uzorcima negativne kontrole koji nisu tretirani umjetnim zaslađivačima utvrđen je vrlo mali udio bakterija koje su promijenile boju iz crvene u bijelu. To može ukazati na činjenicu da su spontano mutirale ili jednostavno uginule tijekom 96 sati inkubacije u termostatu. Knapp (2020) napominje da bakterija *S. marcescens* može izgubiti crvenu boju promjenom temperature uzgoja, hranjivosti medija za uzgoj ili promjenom pH-vrijednosti medija u kojem se nalazi, stoga može postojati određena sumnja u potvrđivanje početne hipoteze. Temperatura uzgoja od 26 °C bila je stalna tijekom pokusa i nije mogla biti razlog gubitka pigmenta. Hranjiva podloga izrađena je u jednom navratu tako da je imala isti sastav u svim bakterijskim uzorcima. Tijekom pokusa pH-vrijednost standardne i radnih otopina održavan je oko vrijednosti 7. Ove tvrdnje ukazuju da je gubitak crvene boje posljedica djelovanja umjetnih zaslađivača. Poznato je da bakterija *S. marcescens* može imati i bijel oblik. Postavlja se pitanje je li gubitak pigmenta uistinu štetan. Iz literature je poznato da se crveni pigment prodigiosin stvara u povoljnim uvjetima i ukazuje na znatne pozitivne karakteristike kao što su povoljna temperatura, pH-vrijednost, hranjivost podloge itd. (Yip i sur., 2019), stoga proizlazi da je inhibicija crvenoga pigmenta za bakteriju štetna.

Radi procjene toksičnog učinka umjetnih zaslađivača na bakterije 2018. godine objavljena je studija koja ukazuje na toksične učinke umjetnih zaslađivača na bioluminiscentne bakterije koje luminisciraju kad otkriju toksične tvari. Bioluminiscentni soj *E. coli* poslužio je kao model osjetljivosti koji se može koristiti za praćenje toksičnosti pojedinih spojeva jer je primijećeno da su umjetna sladila identificirana kao zagađivači okoliša u nastajanju i mogu se naći u prihvavnim vodama, tj. površinskim, podzemnim i pitkim vodama. Istraživanje su proveli znanstvenici na Sveučilištu Ben-Gurion u Negevu (BGU) u Izraelu i Nanyang Technological Universityju u Singapuru, a analizirali su relativnu toksičnost šest popularnih umjetnih zaslađivača (aspartam, sukraloza, saharin, neotam, acetam i ace-k) koje je odobrila FDA (US



Food and Drug Administration). Mjereni su i inducirani luminiscentni signali i rast bakterija. U testu bioluminiscentne aktivnosti uočena su dva različita odgovora na toksičnost - indukcija i inhibicija bioluminiscentnog signala. Rezultati su pokazali da je svih šest umjetnih zaslađivača oštetilo bakterije, neki uzorci oštetili su DNA bakterije dok su drugi uzrokovali oštećenje proteina (Harpaz i sur., 2018). Objedinjeni rezultati ovoga istraživanja (slika 4) ukazuju da je odgovor na toksičnost umjetnih zaslađivača bakterije *S. marcescens* bila inhibicija proizvodnje crvenog pigmenta. U usporedbi s navedenim istraživanjem, u kojem je promatrana i DNA bakterija, najveća je razlika u odgovoru na akutnu toksičnost - nema pojave indukcije zavisne varijable, tj. nije došlo do povećanja crvene obojenosti kulture.

Kako je istaknuto u prethodnom poglavlju, EC50 nije određen zbog toga što za određivanje tog parametra inhibicija ispitivane karakteristike koja se mjeri mora biti u rasponu od 0 do 100 % (Plavšić i Čoporda, 1998) te se EC50 može odrediti iz krivulje toksičnosti. Najveća inhibicija proizvodnje crvenog pigmenta u ovom pokusu ne doseže 50 % iako je masena koncentracija ishodne otopine umjetnih zaslađivača dvostruko veća od one koju su upotrijebili Borojević i sur. (2017) u svom istraživanju slične tematike.

Radi dobivanja preciznijih rezultata u budućnosti se istraživanje može unaprijediti određenim drugim alatima za mjerenje inhibicije stvaranja pigmenta korištene bakterije, istraživanjem DNA i mutacija *S. marcescens* ili modernijim ispitivanjima akutne toksičnosti u sličnim parametrima provedenog istraživanja.

ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata doneseni su sljedeći zaključci u skladu s ciljem istraživanja i postavljenim hipotezama:

- ➊ Svi korišteni umjetni zaslađivači, aspartam, natrijev ciklamat, saharin i kalijev acesulfam, uzrokovali su nestanak crvenog pigmenta prodigiosina bakterije *S. marcescens*
- ➋ Pri manjim koncentracijama umjetni zaslađivači imali su manji toksični učinak na obojenost kultura bakterije *S. marcescens* nego pri većim koncentracijama
- ➌ Najveći udio bakterija *S. marcescens* koje su izgubile crveni pigment, bez obzira na njegovu koncentraciju, uzrokuje aspartam
- ➍ Najmanji udio bakterija koje su izgubile crveni pigment, bez obzira na njegovu koncentraciju, bio je prisutan kod saharina.

ZAHVALA

Najprije zahvaljujem svojoj mentorici, profesorici Mireli Zenko Ivić, što je tijekom cijelog istraživanja odgovarala na svako moje pitanje, ohrabryvala me i poticala. Velika hvala i profesorici Zrinki Gregurić Ferenček za informatičku pomoć u oblikovanju ovoga rada. Zahvaljujem i razrednici, profesorici Svjetlani Štampar, koja je lektorirala rad. Na kraju, iako ne i najmanje važno, posebice zahvaljujem svojoj obitelji i priateljima, Svenu Đukiću i Ivanu Kurucu, koji su mi bili stalna potpora kad god je to bilo potrebno.

LITERATURA

- Borojević T., Ašperger D., Dolar D. 2017. Određivanje toksičnosti ksenobiotika u vodi. Kemija u industriji 67(13): 135-142.
- Foglar L. 2013. Ekotoksikologija. Skripta za studente, Fakultet kemijskog inžinjerstva i tehnologije, Zagreb.
- Gillen A. L., Gibbs R. 2011. *Serratia marcescens*: The Miracle Bacillus. Answersingenesis.org,
<http://www.answersingenesis.org/articles/aid/v6/n1/serratia-marcescens-miracle-bacteria>, pristupljeno 14. 1. 2020.
- Harpaz D., Yeo L.P., Cecchini F., Koon T., Kushmaro A., Tok A., Marks R., Eltzov E. 2018. Measuring artificial sweeteners toxicity using a bioluminescent Bacterial Panel. Molecules 23(10): 2454.



- Knapp S. 2020. *Serratia marcescens*, Biology dictionary, <https://biologydictionary.net/serratia-marcescens/>, pristupljeno 14. 1. 2020.
- Korunić-Košćina, S., Mioč, M., Bobić, V. 2003. Ekotoksičnost kao biološki pokazatelj onečišćenja rafinerijskih otpadnih voda. Goriva i maziva 42 (3): 153-176.
- Pešut S. 2018. Umjetni zaslađivači. Završni rad, Zdravstveno veleučilište, Zagreb.
- Plavšić F., Čoporda K. 1998. Priručnik o toksikologiji, Korunić, Zagreb.
- Sheffield, F. D., Roby, T. B. 1950. Reward value of a non-nutritive sweet taste. Journal of Comparative and Physiological Psychology 43 (6): 471-481.
- Stamp J. A., Labuza T. P. 1989. Mass spectrometric determination of aspartame decomposition products. Evidence for β -isomer formation in solution. Food Additives & Contaminants 6 (4): 397-414.
- Stegink, F. 1984. Aspartame: physiology and biochemistry , https://books.google.com/books?hl=hr&lr=&id=yTH1iI9ybI4C&oi=fnd&pg=PR17&dq=aspartame+discovery&ots=SkRgxEv85z&sig=SfrtQcScIP_twRI9KGsV3F-s--Y, pristupljeno 14. 1. 2020.
- Stilinović B., Hrenović J. 2009. Praktikum iz bakteriologije. Kugler, Zagreb.
- Stohs S. J., Miller J. 2014. A case study involving allergic reactions to sulfur-containing compounds including, sulfite, taurine, acesulfame potassium and sulfonamides, Food and Chemical Toxicology 63: 240-243.
- Taylor J., Richards K., Wiegand R. G. 1968. Toxicological studies with sodium cyclamate and saccharin. Food and cosmetics toxicology 6 (3): 313-327.
- Turk D. 2018. Testovi toksičnosti na živim organizmima. Znanjem stvaramo sigurnost, www.bioinstitut.hr, pristupljeno 6. 3. 2021.
- Yip, C. H., Yarkoni, O., Ajioka, J. i sur. 2019. Nedavni napredak u visokoj razini sinteze perspektivnog kliničkog lijeka, prodigiosina. Applied Microbiology and Biotechnology 103: 1667–1680.
- Thpanorama 2021. *Serratia marcescens* karakteristike, taksonomija, patologija i simptomi, <https://hr.thpanorama.com/articles/biologa/serratia-marcescens-caracteristicas-taxonomia-patologa-y-sntomas.html>, pristupljeno 6. 3. 2021.
- SMC. 2021. <https://www.smc.org.au/>, pristupljeno 6. 3. 2021.
- EPA. 2018. www.epa.gov, pristupljeno 6. 3. 2021.

KISIK IZ BILJAKA

Mia Čmrlec, 1. razred

Gimnazija Josipa Slavenskog, Čakovec

Mentor: Antonija Jančec

SAŽETAK

Istraživanje je nastalo na osnovu rješavanja problema 11. „Kisik iz biljaka“ s državnog Turnira mladih prirodoslovaca 2021. godine. Problem 11. glasi: „Predložite eksperimentalnu metodu za mjerjenje količine kisika koju proizvede zelena biljka.“ Cilj istraživanja je na temelju podataka o visini stupca kisika u epruveti preko jednadžbe pravca izračunati volumen kisika nastalog procesom fotosinteze vodene kuge (*Elodea canadensis*) pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina (ljubičasta, plava, zelena, žuta, narančasta i crvena) kod testnih skupina te rezultate usporediti s rezultatima dobivenima u kontrolnoj skupini koja je izložena svjetlosti svih valnih duljina. Hipoteza istraživanja je da će u usporedbi s kontrolnom skupinom najveći volumen kisika proizvesti vodena kuga izložena svjetlosti ljubičaste i crvene valne duljine, a najmanji vodena kuga izložena svjetlosti zelene valne duljine, što je potvrđeno eksperimentom.

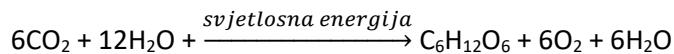
Ključne riječi: fotosinteza; svjetlost; valne duljine svjetlosti; volumen kisika

UVOD

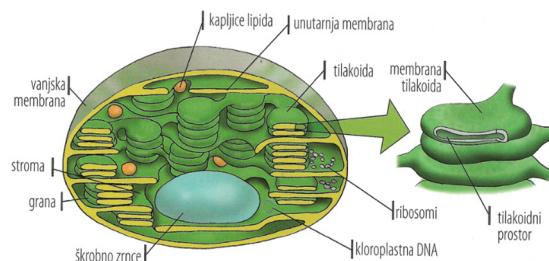
Potaknuto idejom uz rješavanje problema 11. „Kisik iz biljaka“ s državnog Turnira mladih prirodoslovaca 2021. godine, koji je glasio: „Predložite eksperimentalnu metodu za mjerjenje količine kisika koju proizvede zelena biljka.“ provedeno je istraživanje procesa fotosinteze kod vodene kuge. Cilj istraživanja je, na temelju podataka o visini stupca kisika u epruveti, preko jednadžbe pravca, izračunati volumen kisika nastalog procesom fotosinteze vodene kuge (*Elodea canadensis*) pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina (ljubičasta, plava, zelena, žuta, narančasta i crvena) kod testnih skupina te rezultate usporediti s rezultatima dobivenima u kontrolnoj skupini koja je izložena svjetlosti svih valnih duljina.

Fotosinteza je asimilacijski proces kojim fotoautotrofni organizmi (cijanobakterije, alge i biljke) pretvaraju svjetlosnu energiju (najčešće energiju Sunca) u kemijsku energiju pohranjenu u organskom spoju glukozi.

Iz sumarne jednadžbe fotosinteze vidljivo je da reakcijom šest molekula ugljikovog dioksida (CO_2) sa 12 molekula vode (H_2O) uz svjetlosnu energiju nastaje molekula monosaharida glukoze ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) u kojoj je pohranjena kemijska energija, šest molekula kisika (O_2) i šest molekula vode (H_2O) (Lambers i Bassham, 2020).



Fotosinteza se zbiva u okruglim, ovalnim ili vrpčastim staničnim organelima kloroplastima (slika 1).

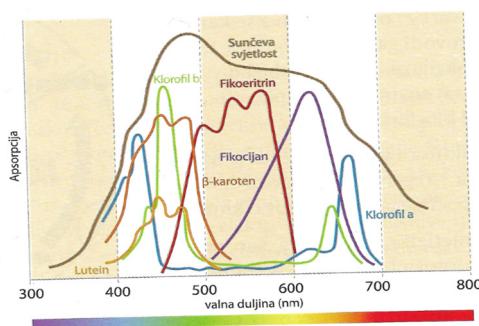


Slika 1 Građa kloroplasta (izvor: Lukša i Mikulić, 2014)



Kloroplasti su obavijeni ovojnicom (dvostrukom membranom). Vanjska membrana je glatka, a unutarnja naborana čime se povećava površina za fotosintezu. Nabore unutarnje membrane nazivamo tilakoidi. Fotopigmenti i enzimi ključni za odvijanje procesa fotosinteze nalaze se na tilakoidima. Tilakoidi se na nekim mjestima slažu u nakupine koje nazivamo zrnca. Unutrašnjost kloroplasta ispunjena je stromom, čiji je sastav sličan sastavu citoplazme. Kloroplasti sadrže vlastitu kloroplastnu DNA i ribosome. Stanice bogate kloroplastima najčešće grade listove zbog čega ih smatramo najvažnijim biljnim organima u procesu fotosinteze.

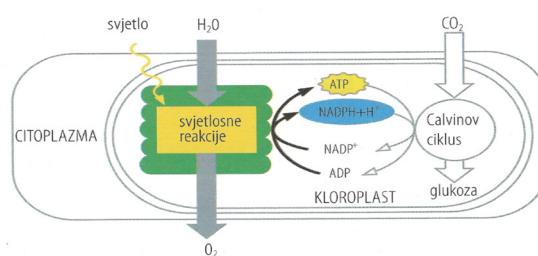
Svaki fotosintetski pigment apsorbira svjetlost određene valne duljine i energije te je pretvara u kemijsku energiju te reflektira svjetlost određene valne duljine i energije koju ne iskorištava u procesu fotosinteze što mi vidimo kao boju nekog fotosintetskog pigmenta (slika 2) (Lazarević i Poljak, 2019).



Slika 2 Biljni pigmenti različitih boja apsorbiraju svjetlost različitih valnih duljina (izvor: Lukša i Mikulić, 2014)

Kloroplasti sadrže zeleni biljni pigment klorofil koji pretvara svjetlosnu energiju u kemijsku energiju. Za proces fotosinteze ključni su tamnozeleni klorofil *a* i svijetlozeleni klorofil *b* koji apsorbiraju svjetlost crvene i plave valne duljine, a reflektiraju svjetlost zelene valne duljine zbog čega ljudsko oko klorofil i biljke percipira kao zelene (Lazarević i Poljak, 2019). Osim klorofila, fotosintetski organizmi sadrže i druge fotopigmente, a za proces fotosinteze najznačajniji su fikocijan, fikoeritrin, β -karotein i lutein. Analizom slike 2 vidljivo je da crveni fikoeritrin i plavi fikocijan zaslužni su za apsorpciju svjetlosti valnih duljina koje β -karotein i klorofil ne apsorbiraju. β -karotein je narančasti pigment zaslužan za apsorpciju svjetlosti plave i zelene valne duljine, a emitira svjetlost čija valna duljina odgovara narančastoj. Lutein jest žuti biljni pigment koji uz β -karoten apsorbira svjetlost čija valna duljina odgovara plavoj i zelenoj valnoj duljini (Lazarević i Poljak, 2019).

Fotosinteza je proces tijekom kojeg se gotovo istodobno zbivaju primarne i sekundarne reakcije (slika 3). Primarne reakcije su fotofosforilacija i fotoliza vode koje se zbivaju na tilakoidnim membranama kloroplasta i ovisne su o svjetlosti. Sekundarne reakcije, odnosno Calvinov ciklus, zbivaju se u stromi kloroplasta i nisu ovisne o svjetlosti (Lukša i Mikulić, 2014).



Slika 3 Shematski prikaz primarnih i sekundarnih reakcija fotosinteze u kloroplastima (izvor: Lukša i Mikulić, 2014)



Primarne reakcije fotosinteze su reakcije koje ovisi o svjetlu, a odvijaju se na tilakoidnim membranama kloroplasta (slika 3). Prvi korak fotosinteze jest apsorpcija svjetlosti na tilakoidnim membranama kloroplasta pomoću pigmenata, primarno klorofila. Apsorbirana svjetlosna energija pobuđuje elektrone u fotosustavu i uzrokuje fotolizu vode, odnosno cijepanje molekule vode. Kao produkti fotolize vode nastaju NADPH i ATP koji ulaze u niz sekundarnih cikličkih reakcija fotosinteze te kisik (Lazarević i Poljak, 2019). Sekundarne reakcije fotosinteze su reakcije koje ne ovise o svjetlosti i poznate su pod nazivom Calvinov ciklus, a odvijaju se u stromi kloroplasta (slika 3). Calvinov ciklus ovisi o NADPH i ATP, odnosno produktima primarnih reakcija. U Calvinovom ciklusu dolazi do fiksacije molekula ugljikova dioksida i njihove redukcije do molekula glukoze. U fiksaciji molekula CO₂ ključnu ulogu ima enzim ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza, poznatiji kao rubisco koji se smatra najzastupljenijim enzimom u cijeloj biosferi (Lazarević i Poljak, 2019).

Prema Lukša i Mikulić (2014), na intenzitet fotosinteze mogu utjecati vanjski procesi, ali i procesi unutar fotoautotrofnog organizma. Neki od čimbenika koji mogu utjecati na intenzitet fotosinteze su količina svjetlosti, valna duljina svjetlosti, koncentracija ugljikovog dioksida u zraku, otvorenost puči kroz koje se vrši transpiracija i izmjena plinova, količina vode koja je dostupna fotoautotrofnom organizmu, okolišna temperatura i stupanj razvoja biljke. Čimbenici koji utječu na intenzitet fotosinteze, ne utječu samo na proces pretvorbe svjetlosne u kemijsku energiju, već i na količinu proizvedenog kisika koju je različitim eksperimentalnim metodama moguće izmjeriti ili izračunati.

Poznato je da je ugljikov dioksid u procesu fotosinteze reaktant te da ga biljke vežu tijekom sekundarne reakcije fotosinteze, odnosno tijekom Calvinovog ciklusa. Udio ugljikovog dioksida u zraku je samo 0,04%, zbog čega je upravo njegova koncentracija u zraku najčešći ograničavajući čimbenik u procesu fotosinteze. Voda je također reaktant u procesu fotosinteze te je ona ključna u primarnim reakcijama, odnosno tijekom fotolize vode. U pravilu, fotosintetski organizmi imaju dovoljnu količinu vode za potrošnju u reakciji fotolize. Međutim, nedostatak vode uzrokuje zatvaranje puči, čime je onemogućena izmjena plinova, odnosno ulazak ugljikovog dioksida što posljedično dovodi do usporavanja fotosinteze. Jedan od najznačajnijih ograničavajućih čimbenika tijekom procesa fotosinteze jest svjetlost. Svjetlost određenih valnih duljina i energije je nužna za pokretanje i normalan tijek fotosinteze. Kao što je spomenuto, za apsorpciju svjetlosti zaslužni su fotopigmenti koji su različito obojani, što znači da apsorbiraju svjetlost različitih valnih duljina. Osim valne duljine svjetlosti, važna je i jačina odnosno intenzitet svjetlosti koja je proporcionalna s intenzitetom fotosinteze.

Hipoteza istraživanja je da će, u usporedbi s kontrolnom skupinom, najveći volumen kisika proizvesti vodena kuga izložena svjetlosti ljubičaste i crvene valne duljine, a najmanji vodena kuga izložena svjetlosti zelene valne duljine. Hipoteza je donesena na temelju teorijske razrade problema u kojoj zaključujemo da svjetlost ljubičaste i crvene valne duljine klorofil apsorbira i koristi u procesu fotosinteze prilikom koje se stvara kisik, a da zelenu valnu duljinu svjetlosti on reflektira.

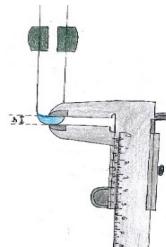
METODE

Izrada baždarnih krivulja

Za izradu baždarnih krivulja ovisnosti visine stupca o volumenu koristi se voda. Obzirom da se u eksperimentalnom postavu za kontrolnu i testne skupine koriste dva različita tipa epruveta, napravljene su baždarne krivulje za tip epruvete koji se koristi kod kontrolne skupine te za tip epruvete



koja se koristi kod testnih skupina. Aparatura korištena prilikom izrade baždarne krivulje prikazana je na slici 4.



Slika 4 Skica aparature korištenе prilikom izrade baždarne krivulje ovisnosti visine stupca o volumenu vode.

Za izradu baždarnih krivulja u testnu i kontrolnu epruvetu doda se po 0,5 mL vode pomoću mikropipete (MicroPette Plus Autoclavable Pippetor, DLab) do maksimalnog volumena od 4 mL te se nakon svakog dodavanja vode pomoću pomicne mjerke očita visina stupca od dna epruvete do donjeg meniskusa. Svaka serija mjerjenja ponavlja se 3 puta, rezultati se bilježe u Excel tablicu te se nakon mjerjenja izračuna srednja vrijednost i standardna devijacija. Rezultati mjerjenja prikazani su u tablici 1 i tablici 2.

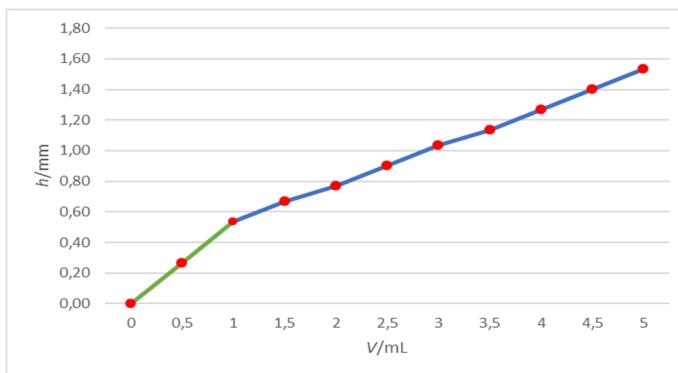
Tablica 1 Rezultati mjerjenja ovisnosti visine stupca o poznatom volumenu vode u kontrolnoj epruveti

V/mL	h_1/mm	h_2/mm	h_3/mm	$\bar{h}/\text{mm} \pm \sigma$
0,0	0,0	0,0	0,0	$0,00 \pm 0,00$
0,5	0,2	0,3	0,3	$0,27 \pm 0,06$
1,0	0,6	0,5	0,5	$0,53 \pm 0,06$
1,5	0,7	0,6	0,7	$0,67 \pm 0,06$
2,0	0,8	0,7	0,8	$0,77 \pm 0,06$
2,5	0,9	0,9	0,9	$0,90 \pm 0,00$
3,0	1,0	1,1	1,0	$1,03 \pm 0,06$
3,5	1,1	1,2	1,1	$1,13 \pm 0,06$
4,0	1,2	1,3	1,3	$1,27 \pm 0,06$
4,5	1,4	1,4	1,4	$1,40 \pm 0,00$
5,0	1,5	1,5	1,6	$1,53 \pm 0,06$

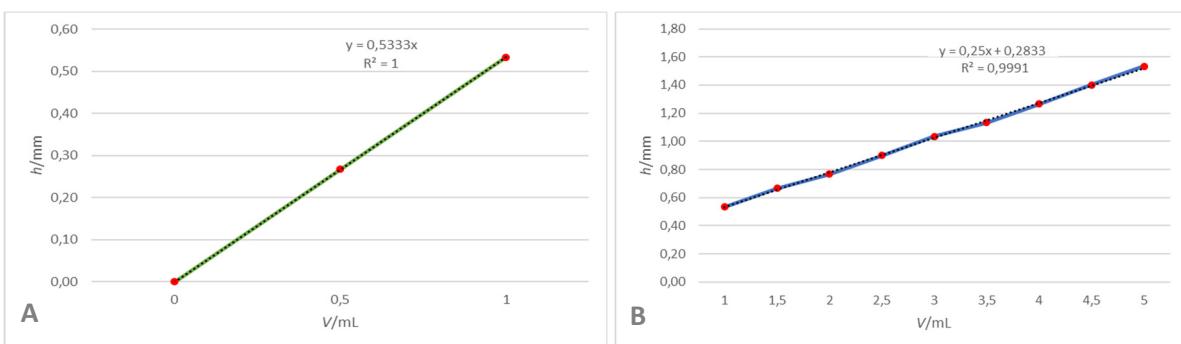
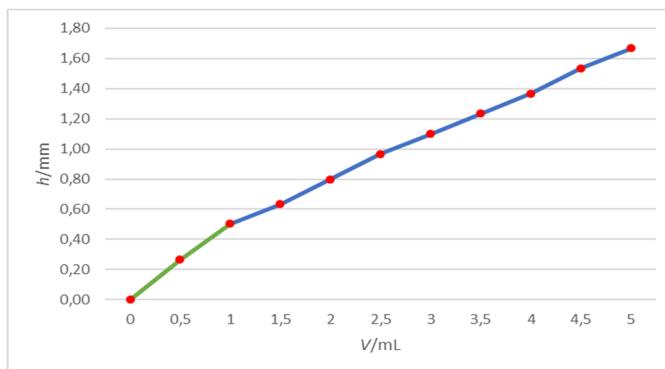
Tablica 2 Rezultati mjerjenja ovisnosti visine stupca o poznatom volumenu vode u testnoj epruveti

V/mL	h_1/mm	h_2/mm	h_3/mm	$\bar{h}/\text{mm} \pm \sigma$
0,0	0,0	0,0	0,0	$0,00 \pm 0,00$
0,5	0,3	0,3	0,2	$0,27 \pm 0,06$
1,0	0,5	0,5	0,5	$0,50 \pm 0,00$
1,5	0,6	0,7	0,6	$0,63 \pm 0,06$
2,0	0,8	0,8	0,8	$0,80 \pm 0,00$
2,5	1,0	0,9	1,0	$0,97 \pm 0,06$
3,0	1,1	1,1	1,1	$1,10 \pm 0,00$
3,5	1,2	1,2	1,3	$1,23 \pm 0,06$
4,0	1,4	1,4	1,3	$1,37 \pm 0,06$
4,5	1,5	1,5	1,6	$1,53 \pm 0,06$
5,0	1,6	1,7	1,7	$1,67 \pm 0,06$

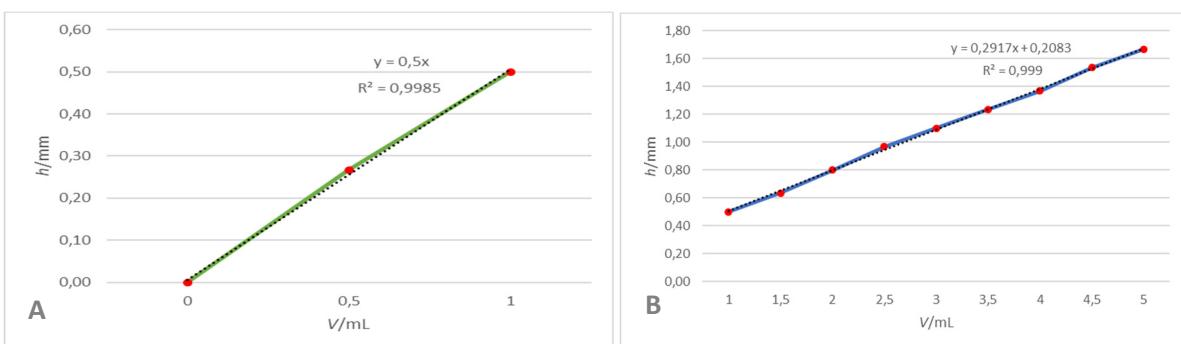
Na temelju izračunatih srednjih vrijednosti visine stupca i poznatih dodatnih volumena vode, nacrtajte se grafički prikaz ovisnosti ta dva parametra koristeći program Excel. Kao što je vidljivo na slici 5 i 6, ne leže sve točke na istom pravcu, a do odstupanja dolazi zbog zaobljenog dna epruvete. Kako bi se uklonila nepreciznost i pogreške pri računanju nastalog volumena kisika, dobivene krivulje podijeljene su na dvije baždarne krivulje (slika 6A i B; slika 8A i B). Prva baždarna krivulja je za volumene od 0 do 1 mL (zelena), a druga je za volumene od 1 do 4 mL (plava). Na taj način osiguran je precizniji izračun nastalog volumena kisika tijekom procesa fotosinteze.



Slika 5 Ovisnost visine stupca o volumenu vode u kontrolnoj epruveti

Slika 6 Baždarni pravac ovisnosti visine stupca o volumenu vode u kontrolnoj epruveti. Za volumene od 0 do 1 mL jednadžba pravca je $y = 0,5333x$ (A), a za volumene od 1 do 5 mL jednadžba pravca je $y = 0,25x + 0,2833$ (B)

Slika 7 Ovisnost visine stupca o volumenu vode u testnoj epruveti

Slika 8 Baždarni pravac ovisnosti visine stupca o volumenu vode u testnoj epruveti. Za volumene od 0 do 1 mL jednadžba pravca je $y = 0,5x$ (A), a za volumene od 1 do 5 mL jednadžba pravca je $y = 0,2917x + 0,2083$ (B)



Eksperimentalni postav i mjerena

Pripremi se 4,5 L 1 %-tne vodene otopine natrijeva hidrogenkarbonata (NaHCO_3) (SAPS, 2020) te se pripremljena otopina ulije u pneumatsku kadu. U pneumatsku kadu smjesti se četiri seta testnih šarenih epruveta. Jedan set šarenih epruveta sastoji se od crvene, narančaste, žute, zelene, plave i ljubičaste epruvete. U pneumatsku kadu smjesti se i jedan set od četiri kontrolnih, bezbojnih epruveta.

Nakon što se epruvete uronjene i potpuno ispunjene vodenom otopinom NaHCO_3 u svaku se pažljivo doda biljka kanadska vodena kuga (*Elodea canadensis*) (SAPS, 2020) sa točno 60 listića na svakoj biljci. Prebrojavani su listići jer je upravo to biljni organ u kojem se odvija proces fotosinteze (Lukša i Mikulić, 2014). Potrebno je pažljivo uranjati vodenu kugu u svaku epruvetu kako ne bi došlo do pucanja stabljike i oštećivanja listića. Kada je u svih 40 epruveta dodana vodena kuga, lagano su okrenute, tako da dno epruvete izvire iz vode te postavljene na stalke (slika 9).



Slika 9 Eksperimentalni postav

Eksperimentalni postav, drži se pod kontroliranim temperaturnim uvjetima od $20 \pm 0,2^\circ\text{C}$ te reguliranim i pravilnim 12-satnim ciklusima svjetlosti i tame. Kao izvor svjetlosti koristi se LED žarulja od 5 W, kako bi kroz cijelo vrijeme eksperimenta biljke imale svjetlost jednakog intenziteta.

Visina stupca proizведенog kisika mjereni se pomoću pomicne mjerke uzastopno tijekom pet dana u isto vrijeme na kraju 12-satnog ciklusa svjetlosti. Dobiveni rezultati bilježe se u Excel tablicu te se iz jednadžbi pravaca izračunaju volumeni nastalog kisika.

Obrada podataka

Rezultati mjerena visine stupca i volumena kisika nastalog procesom fotosinteze pri različitim valnim duljinama svjetlosti obrađeni su u računalnom programu Microsoft Excel 2016. Rezultati su prikazani tablično i grafički iskazani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija četiri zasebne serije mjerena (replike). Za utvrđivanje statistički značajnih razlika između volumena kisika nastalog u pojedinim testnim skupinama i kontrolne skupine korišten je Studentov ili t-test. Razina statističke značajnosti određena je na 5 %, odnosno kao statistički značajni rezultati smatraju se vrijednosti različite na razini $p \leq 0,05$.

REZULTATI

Rezultati izmjerene visine stupca kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze vodene kuge (*Elodea canadensis*) pri različitim valnim duljinama svjetlosti tijekom pet uzastopnih dana prikazani su u tablici 3 kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Prikazani rezultati dobiveni su mjerjenjem visine stupca kisika u četiri zasebne serije (replike). Pojedinačni rezultati mjerena prikazani su u prilogu 1.

Tablica 3 Rezultati izmjerene visine stupca kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze pri različitim valnim duljinama svjetlosti prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija četiri zasebne serije mjerena.

λ/nm Dani	$\bar{h}(\text{O}_2)/\text{mm} \pm \sigma$						
	380 – 440	440 – 500	500 – 565	565 – 590	590 – 625	625 – 740	380 – 740
1. dan	0,50 \pm 0,00	0,18 \pm 0,05	0,20 \pm 0,00	0,30 \pm 0,00	0,28 \pm 0,05	0,53 \pm 0,05	0,38 \pm 0,05
2. dan	0,78 \pm 0,05	0,28 \pm 0,05	0,33 \pm 0,05	0,48 \pm 0,05	0,40 \pm 0,00	0,90 \pm 0,00	0,55 \pm 0,06
3. dan	0,98 \pm 0,05	0,40 \pm 0,00	0,43 \pm 0,05	0,68 \pm 0,05	0,55 \pm 0,06	1,13 \pm 0,05	0,68 \pm 0,05
4. dan	1,18 \pm 0,05	0,68 \pm 0,05	0,60 \pm 0,00	0,88 \pm 0,05	0,70 \pm 0,00	1,23 \pm 0,05	0,80 \pm 0,08
5. dan	1,38 \pm 0,05	0,78 \pm 0,05	0,70 \pm 0,00	0,98 \pm 0,05	0,80 \pm 0,00	1,33 \pm 0,05	0,93 \pm 0,10

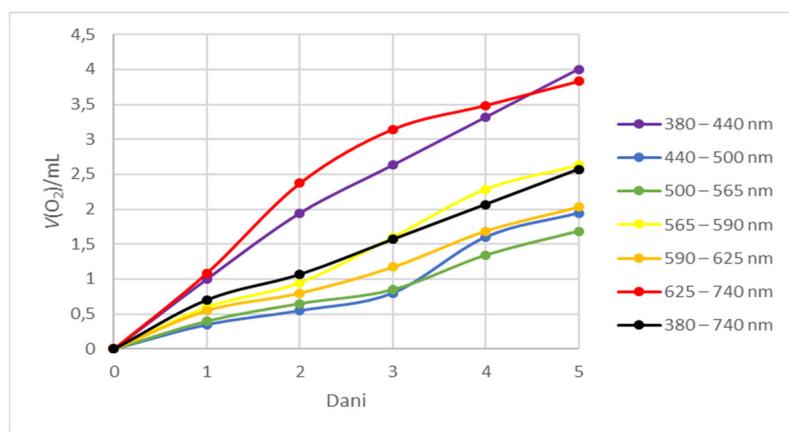
Rezultati izračunatog volumena kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze vodene kuge (*Elodea canadensis*) pri različitim valnim duljinama svjetlosti tijekom pet uzastopnih dana prikazani su u tablici 4 kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Prikazani rezultati dobiveni su izračunavanjem volumena kisika preko jednadžbi pravca ovisnosti visine stupca o volumenu u četiri zasebne serije (replike). Pojedinačni rezultati mjerena prikazani su u prilogu 1.

Za utvrđivanje statistički značajnih razlika između volumena kisika nastalog u pojedinim testnim skupinama i kontrolne skupine korišten je Studentov ili t-test. Rezultati koji su statistički značajno veći od rezultata kod kontrolne skupine u tablici 4 označeni su žutom bojom a rezultati koji su statistički značajno manji od rezultata kontrolne skupine označeni su plavom bojom.

Tablica 4. Rezultati izračunatog volumena kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze pri različitim valnim duljinama svjetlosti prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija četiri zasebna mjerena. Statistički značajno veći rezultati od kontrolne skupine (žuto), manje od kontrolne skupine (plavo), $p \leq 0,05$.

λ/nm Dani	$\bar{V}(\text{O}_2)/\text{mL} \pm \sigma$						
	380 – 440	440 – 500	500 – 565	565 – 590	590 – 625	625 – 740	380 – 740
1. dan	1,00 \pm 0,00	0,35 \pm 0,10	0,40 \pm 0,00	0,60 \pm 0,00	0,55 \pm 0,10	1,09 \pm 0,17	0,70 \pm 0,09
2. dan	1,94 \pm 0,17	0,55 \pm 0,10	0,65 \pm 0,10	0,95 \pm 0,10	0,80 \pm 0,00	2,37 \pm 0,00	1,07 \pm 0,23
3. dan	2,63 \pm 0,17	0,80 \pm 0,00	0,85 \pm 0,10	1,60 \pm 0,17	1,17 \pm 0,20	3,14 \pm 0,17	1,57 \pm 0,20
4. dan	3,31 \pm 0,17	1,60 \pm 0,17	1,34 \pm 0,00	2,29 \pm 0,17	1,69 \pm 0,00	3,49 \pm 0,17	2,07 \pm 0,33
5. dan	4,00 \pm 0,17	1,94 \pm 0,17	1,69 \pm 0,00	2,63 \pm 0,17	2,03 \pm 0,00	3,83 \pm 0,17	2,57 \pm 0,38

Na temelju izračunatih srednjih vrijednosti prikazanih u tablici 4 izrađen je grafički prikaz (slika 10) koji prikazuje porast izračunatih srednjih vrijednosti volumena kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina.



Slika 10 Porast prosječne vrijednosti volumena kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina

Iz slike 11 vidljivo je da se fotosinteza zbiva većim intenzitetom procijenjenim na temelju volumena kisika koji nastaje u biljkama vodene kuge koje su izložene svjetlosti crvene i ljubičaste valne duljine u



odnosu na kontrolnu skupinu što je i statistički značajan rezultat na razini značajnosti od $p \leq 0,05$. Također, vidljivo je da se fotosinteza zbiva otprilike podjednakim intenzitetom u biljaka vodene kuge koje su izložene svjetlosti žute valne duljine u odnosu na kontrolnu skupinu, a da se fotosinteza zbiva manjim intenzitetom u biljaka izloženim narančastoj, plavoj i zelenoj svjetlosti. Statistički značajno manji intenzitet fotosinteze na razini od $p \leq 0,05$ procijenjen na temelju volumena kisika koji nastaje utvrđen je kod biljaka izloženih svjetlosti plave i zelene valne duljine.



Slika 11 Razlika u volumenu kisika u testnim epruvetama treći dan pokusa

RASPRAVA

Analizom izračunatih volumena proizvedenog kisika kod vrste *Elodea canadensis* izložene svjetlosti različitih valnih duljina utvrđeno je da u usporedbi s kontrolnom skupinom statistički značajno veći volumen kisika proizvede biljka izložena svjetlosti crvene i ljubičaste valne duljine, a manji ona izložena svjetlosti zelene i plave valne duljine, što je u skladu s literaturom. Prema Lazarević i Poljak (2019), klorofil apsorbira svjetlost ljubičaste i crvene valne duljine i koristi je u procesu fotosinteze, tijekom koje kao jedan od produkata nastaje kisik, a zelenu valnu duljinu svjetlosti reflektira.

Obzirom na postavljeni problem „Predložite eksperimentalnu metodu za mjerjenje količine kisika koju proizvede zelena biljka“ osmišljena i provedena eksperimentalna metoda izračunavanja volumena kisika pokazuje se efektivnom jer se rezultati poklapaju s rezultatima SAPS (2020), u kojem je korištena slična eksperimentalna metoda.

Prema Lukša i Mikulić (2014), neki od čimbenika koji mogu utjecati na intenzitet fotosinteze su količina svjetlosti, valna duljina svjetlosti, koncentracija ugljikovog dioksida u zraku, otvorenost puči kroz koje se vrši transpiracija i izmjena plinova, količina vode koja je dostupna fotoautotrofnom organizmu, okolišna temperatura i stupanj razvoja biljke. U skladu s literaturom, mogući čimbenik koji je doveo do nejednake količine dnevno proizvedenog volumena kisika kod testnih organizama izloženih svjetlosti različitih valnih duljina jest okolišna temperatura i količina svjetlosti. Iako se valna duljina svjetlosti kontrolirala, sama količina svjetlosti koja dospijeva do testnih organizama nije bila kontrolirana. Okolišna temperatura, odnosno temperatura otopine u kojoj su testni organizmi bili smješteni, varirala je ovisno o temperaturi sobe u kojoj se sam eksperimentalni sastav nalazio.

Prijedlozi za moguće unaprjeđenje istraživanja su preciznija kontrola količine svjetlosti te valnih duljina kojima su biljke izložene. Potrebno je održavati temperaturu otopine u kojoj se eksperimentalni postav držao stalnom. Također, može se promatrati utjecaj drugih parametara na količinu proizvedenog kisika kao što je temperatura. U daljnjoj razradi problema istraživanje valja obaviti u laboratoriju s kontroliranim stalnim uvjetima.

**ZAKLJUČCI**

Hipoteza istraživanja da će najveći volumen kisika proizvesti vodena kuga izložena svjetlosti ljubičaste i crvene valne duljine, a najmanji vodena kuga izložena svjetlosti zelene valne duljine je potvrđena eksperimentom.

U usporedbi s kontrolnom skupinom statistički značajno veći volumen kisika, na razini značajnosti od 5 %, nastaje kao produkt fotosinteze u biljaka vodene kuge izloženih svjetlosti crvene i ljubičaste valne duljine. Statistički značajno manji volumen kisika nastaje u biljaka vodene kuge izloženih svjetlosti zelene valne duljine, što potvrđuje pretpostavku istraživanja.

ZAHVALA

Zahvalila bih svojoj mentorici i profesorici Antoniji Jančec koja mi je pomogla u realizaciji ovog rada te svim profesorima i učenicima Gimnazije Josipa Slavenskog Čakovec koji su pomogli u radu. Zahvaljujem i zaposlenicima Botaničkog vrta Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu na uzorcima vodene kuge.

LITERATURA

Lambers H., Bassham J. A. 2020. Photosynthesis. Encyclopædia Britannica.

<https://www.britannica.com/science/photosynthesis>, pristupljeno 1. prosinca 2020.

Lazarević B., Poljak M. 2019. Fotosinteza, U Lazarević B. (ur.), Fiziologija bilja. Tiskara Zelina d.d., Sveti Ivan Zelina, str. 39-41.

Lukša Ž., Mikulić S. 2014. Temeljni metabolički procesi u biljkama, U Čorić S. (ur.), Život 3 – udžbenik biologije u 3. razredu gimnazije. Školska knjiga, Zagreb, str. 176-181.

SAPS 2020. Measuring the rate of photosynthesis. <https://www.saps.org.uk/secondary/teaching-resources/157-measuring-the-rate-of-photosynthesis>, pristupljeno 6. prosinca 2020.

PRILOZI

Prilog 1 Prikaz rezultata četiri zasebne serije mjerenja visine stupca i izračuna volumena kisika nastalog tijekom procesa fotosinteze pod utjecajem svjetlosti različitih valnih duljina. Prikazani su pojedinačni rezultati svake serije te srednje vrijednosti i standardne devijacije

λ/nm	380 – 440		440 – 500		500 – 565		565 – 590		590 – 625		625 – 740		380 – 740	
1. DAN	h/mm	V/mL												
1. serija	0,5	1,0	0,1	0,2	0,2	0,4	0,3	0,6	0,3	0,6	0,6	1,3	0,4	0,8
2. serija	0,5	1,0	0,2	0,4	0,2	0,4	0,3	0,6	0,2	0,4	0,5	1,0	0,4	0,8
3. serija	0,5	1,0	0,2	0,4	0,2	0,4	0,3	0,6	0,3	0,6	0,5	1,0	0,3	0,6
4. serija	0,5	1,0	0,2	0,4	0,2	0,4	0,3	0,6	0,3	0,6	0,5	1,0	0,4	0,8
\bar{x}	0,50	1,00	0,18	0,35	0,20	0,40	0,30	0,60	0,28	0,55	0,53	1,09	0,38	0,70
σ	0,00	0,00	0,05	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,10	0,05	0,17	0,05	0,09

λ/nm	380 – 440		440 – 500		500 – 565		565 – 590		590 – 625		625 – 740		380 – 740	
2. DAN	h/mm	V/mL												
1. serija	0,8	2,0	0,2	0,4	0,3	0,6	0,5	1,0	0,4	0,8	0,9	2,4	0,6	1,3
2. serija	0,7	1,7	0,3	0,6	0,4	0,8	0,4	0,8	0,4	0,8	0,9	2,4	0,5	0,9
3. serija	0,8	2,0	0,3	0,6	0,3	0,6	0,5	1,0	0,4	0,8	0,9	2,4	0,5	0,9
4. serija	0,8	2,0	0,3	0,6	0,3	0,6	0,5	1,0	0,4	0,8	0,9	2,4	0,6	1,3
\bar{x}	0,78	1,94	0,28	0,55	0,33	0,65	0,48	0,95	0,40	0,80	0,90	2,37	0,55	1,07
σ	0,05	0,17	0,05	0,10	0,05	0,10	0,05	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,23

λ/nm	380 – 440		440 – 500		500 – 565		565 – 590		590 – 625		625 – 740		380 – 740	
3. DAN	h/mm	V/mL												
1. serija	1,0	2,7	0,4	0,8	0,4	0,8	0,7	1,7	0,5	1,0	1,2	3,4	0,7	1,7
2. serija	0,9	2,4	0,4	0,8	0,5	1,0	0,6	1,3	0,6	1,3	1,1	3,1	0,7	1,7
3. serija	1,0	2,7	0,4	0,8	0,4	0,8	0,7	1,7	0,5	1,0	1,1	3,1	0,6	1,3
4. serija	1,0	2,7	0,4	0,8	0,4	0,8	0,7	1,7	0,6	1,3	1,1	3,1	0,7	1,7
\bar{x}	0,98	2,63	0,40	0,80	0,43	0,85	0,68	1,60	0,55	1,17	1,13	3,14	0,68	1,57
σ	0,05	0,17	0,00	0,00	0,05	0,10	0,05	0,17	0,06	0,20	0,05	0,17	0,05	0,20



λ/nm	380 – 440		440 – 500		500 – 565		565 – 590		590 – 625		625 – 740		380 – 740	
4. DAN	h/mm	V/mL												
1. serija	1,2	3,4	0,6	1,3	0,6	1,3	0,9	2,4	0,7	1,7	1,3	3,7	0,8	2,1
2. serija	1,1	3,1	0,7	1,7	0,6	1,3	0,8	2,0	0,7	1,7	1,2	3,4	0,9	2,5
3. serija	1,2	3,4	0,7	1,7	0,6	1,3	0,9	2,4	0,7	1,7	1,2	3,4	0,7	1,7
4. serija	1,2	3,4	0,7	1,7	0,6	1,3	0,9	2,4	0,7	1,7	1,2	3,4	0,8	2,1
\bar{x}	1,18	3,31	0,68	1,60	0,60	1,34	0,88	2,29	0,70	1,69	1,23	3,49	0,80	2,07
σ	0,05	0,17	0,05	0,17	0,00	0,00	0,05	0,17	0,00	0,00	0,05	0,17	0,08	0,33

λ/nm	380 – 440		440 – 500		500 – 565		565 – 590		590 – 625		625 – 740		kontrola	
5. DAN	h/mm	V/mL												
1. serija	1,4	4,1	0,7	1,7	0,7	1,7	1,0	2,7	0,8	2,0	1,4	4,1	0,9	2,5
2. serija	1,3	3,7	0,8	2,0	0,7	1,7	0,9	2,4	0,8	2,0	1,3	3,7	1,0	2,9
3. serija	1,4	4,1	0,8	2,0	0,7	1,7	1,0	2,7	0,8	2,0	1,3	3,7	0,8	2,1
4. serija	1,4	4,1	0,8	2,0	0,7	1,7	1,0	2,7	0,8	2,0	1,3	3,7	1,0	2,9
\bar{x}	1,38	4,00	0,78	1,94	0,70	1,69	0,98	2,63	0,80	2,03	1,33	3,83	0,93	2,57
σ	0,05	0,17	0,05	0,17	0,00	0,00	0,05	0,17	0,00	0,00	0,05	0,17	0,10	0,38



JEZERSKA VODA

Stipe Popović, 1. razred

Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec, Čakovec

Mentor: Antonija Jančec

SAŽETAK

Istraživanje je potaknuto rješavanjem problema 5. „Jezerska voda“ na državnom Turniru mladih prirodoslovaca 2021. godine. Problem 5. glasi: „*Kapljica vode iz prirodnog jezera može sadržavati bakterije, arheje, alge, gljive, protozoe i druge organizme. Uzorkovanjem identificirajte što je moguće više živih organizama. Kolika je vjerojatnost da druga kapljica sadrži drugačiji skup vrsta?*“. Uzorkovanjem vode „žive mrvice“ Svetomartinske Mure prikupljena su 2 uzorka koja sadrže osnovni skup mikroskopskih organizama. Svaki uzorak vode podijeljen je u 10 poduzoraka. Određivanje relativne brojnosti jedinki mikroskopiranjem uz metodu probnih prostora (metoda kvadratnih rešetki) provedeno je na svakom poduzorku. Na temelju dobivenih podataka o brojnosti jedinki, izračunati su kvalitativni indeksi sličnosti koji pokazuju u kojoj su mjeri zajednice u prikupljenim uzorcima vode slične po sastavu vrsta te kvantitativni indeks sličnosti koji u obzir uzima i sličnost u broju jedinki u prikupljenim uzorcima vode. U početku je postavljena hipoteza da zbog toga što su uzorci uzeti na istom mjestu, istoj dubini, istom vremenu imati će sličan kvalitativan sastav zajednica, no da će im se razlikovati kvantitativan sastav zajednica, zbog toga što je raspored planktonskih organizama u vodi nejednolik. Dobivenim rezultatima Jaccardovim i Sørensovim indeksom potvrđena je hipoteza da će uzorci imati sličan kvalitativan sastav no visokim rezultatom dobivenim Bray-Curtisovim indeksom opovrgнутa je hipoteza da će se kvantitativan sastav uzorka razlikovati.

Ključne riječi: kvalitativan sastav; kvantitativan sastav; metoda kvadratnih rešetki

UVOD

U ovom istraživačkom radu prikazani su rezultati rješavanja problema 5. „Jezerska voda“ s državnog Turnira mladih prirodoslovaca 2021. godine, koji glasi: „*Kapljica vode iz prirodnog jezera može sadržavati bakterije, arheje, alge, gljive, protozoe i druge organizme. Uzorkovanjem identificirajte što je moguće više živih organizama. Kolika je vjerojatnost da druga kapljica sadrži drugačiji skup vrsta?*“.

Ovo istraživanje provedeno je na uzorcima vode mrtvog rukavca Svetomartinske Mure. Mrtvi rukavci su odijeljeni dijelovi nekadašnjeg toka rijeke polukružnog oblika koji sada više ne teku. Premda su mrtvi rukavci odsjećeni od glavnog toka rijeke, život u njima i oko njih itekako je bogat i karakterizira ih velika bioraznolikost, odnosno bogatstvo vrsta (Šafarek, 2020). Upravo zbog te velike biološke raznolikosti koja ih karakterizira, poučna staza uz mrtvicu Svetomartinske Mure nazvana je „Živom mrtvicom“ U plankton ubrajamo sve biljne ili životinjske organizme koje karakterizira život u slobodnoj vodi gdje se ograničeno kreću nošeni strujama i valovima. Postoji nekoliko različitih podjela planktona. Jedna od podjela je prema veličini tijela, pa tako plankton možemo podijeliti na makroplankton (od 5 do 500 nm), mezoplankton (od 0,5 do 5 mm), mikroplankton (od 50 do 500 µm) te nanoplankton (od 5 do 50 µm). Plankton možemo podijeliti i ovisno o dubini na kojoj su rasprostranjeni. Epiplankton ili fotoplankton možemo pronaći do dubine prodora svjetlosti u vodu, što znači do maksimalno 200 m dubine, a najbrojniji predstavnici epiplanktona su fotosintetske alge. Batiplankton možemo pronaći ispod dubine od 200 m i sastoji se isključivo od životinja, odnosno zooplanktona (HE, 2020). U ovom istraživanju proučavan je samo epiplankton.

Biljni plankton ili fitoplankton čine jednostanične alge od kojih su u slatkovodnome planktonu najvažniji predstavnici zlatnožute alge (Chrysophyta) i zelene alge (Chlorophyta). Fitoplankton je ključan za održavanje uravnoteženog stanja u vodenim ekosustavima, jer je on prva karika u prehrambenom lancu vodenih ekosustava. Fitoplankton fotosinteziom proizvodi 95 % primarne organske tvari u oceanima te je hrana mnogim pripadnicima zooplanktona, ali i mnogim ribama (HE, 2020).



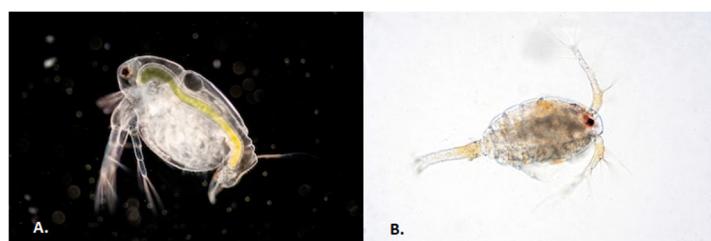
U životinjskom planktonu ili zooplanktonu dominiraju četiri grupe organizama: praživotinje (Protozoa), kolnjaci (Rotatoria) te planktonski račići rašljoticalci (Cladocera) i veslonošci (Copepoda).

Praživotinje (Protozoa) (slika 1) su jednostanični eukariotski organizmi, čija se veličina tijela kreće u rasponu od 2 do 450 µm. Iako su praživotinje jednostanični organizmi, njihove su stanice mnogo složenije građe od stanica mnogostaničnih organizama. Svaka stanica praživotinje, s obzirom na to da funkcioniра kao samostalni organizam, mora imati specijalizirane strukture koje omogućavaju sve životne funkcije kao što su kretanje, uzimanje hrane, razmnožavanje (Habdija i Primc Habdija, 2004). Praživotinje su kozmopolitski rasprostranjene vrste, nastanjuju mora, vode na kopnu i vlažno tlo. Razlikujemo koljeno bičaša (Mastigophora), sluzavaca (Sarcodina), trepetljikaša (Ciliophora) te parazitskih praživotinja truskovaca (Sporozoa) i Cnidospora.



Slika 1 Praživotinje (Protozoa): A. Bičaši (Mastigophora), B. Sluzavci (Sarcodina), C. Trepetljikaši (Ciliophora) (izvor: SSTK, 2003)

Planktonski račići imaju veličinu tijela od 1 do 5 mm te su vidljivi i golim okom. Skupine Cladocera i Copepoda (slika 2) čitav životni vijek provode u slobodnoj vodi i rasprostranjeni su u svim kopnenim vodama, možemo ih pronaći u jezerima, ribnjacima, akumulacijama, barama, donjim tokovima velikih rijeka te u mrtvim rukavcima. Planktonski račići uglavnom su grabežljivci te hvataju druge predstavnike zooplanktona (Vrebčević, 1996).



Slika 2 Planktonski račići: A. Rašljoticalci (Cladocera), B. Veslonošci (Copepoda) (izvor: SSTK, 2003)

Cilj ovog istraživanja bio je upoznati se s mikroskopskim svijetom mrtvog rukavca rijeke Mure te utvrditi sastav planktonske zajednice. Primjenjujući metodu kvadratnih rešetki uz mikroskopiranje izračunati relativnu brojnost jedinki u kapljici vode. Na temelju rezultata izračunavanja relativne brojnosti jedinki u 10 poduzoraka za svaki od 2 prikupljena uzroka, cilj je bio izračunati kvalitativni i kvantitativni indeks sličnosti koji brojčano pokazuje u kojoj su dvije uzorkovane mikroskopske zajednice slične ili različite.

Prepostavka je da će 2 prikupljena uzorka imati sličan kvalitativni sastav mikroskopskih zajednica, što znači da će isti organizmi biti prisutni u jednom i u drugom uzorku, s obzirom na to da su uzorci vode uzeti na istoj lokaciji i u isto vrijeme. Međutim, prepostavka je da će im se razlikovati kvantitativni sastav, odnosno da će biti različita brojnost organizama u jednom i drugom uzorku jer su planktonski organizmi u stupcu vode raspoređeni nasumično, a ne jednoliko.



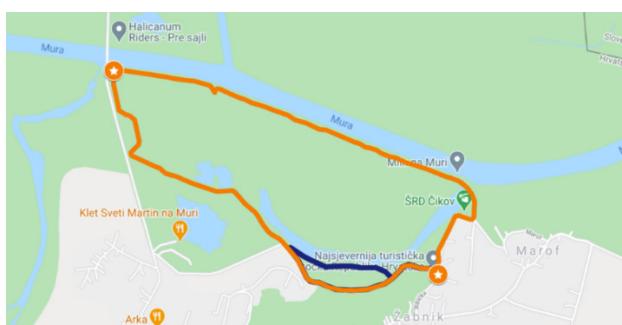
METODE

Materijali korišteni tijekom provedbe eksperimenta:

- ➊ plastična boca za uzorkovanje 50 mL, DLab
- ➋ predmetna stakalca
- ➌ kvadratna rešetka (prozirna folija na kojoj je otisnuta mreža ukupne površine 1 cm², podijeljena na 100 kvadratića površine 1 mm²)
- ➍ mikroskop (XSZ-0900)
- ➎ mikropipeta (MicroPette Plus Autoclavable Pippettor, DLab)
- ➏ 10 %-tna CMC (karboksimetilceluloza)
- ➐ ključ za determinaciju (Corrington, 1972).

Lokacija i uzorkovanje vode

Obilaskom ogranka poučne staze „Svetomartinska Mura“ pod nazivom „Živa mrtvica“ odabrana je pristupačna lokacija na kojoj je provedeno uzorkovanje vode. Na slici 3 prikazana je karta područja poučne staze „Svetomartinska Mura“ s narančasto označenim područjem staze, a plavo označeno područje pripada ogranku poučna staza „Živa mrtvica“.



Slika 3 Poučna staza „Svetomartinska Mura“ (narančasto) i poučna staza „Živa mrtvica“ (plavo) (izvor: MDV, 2020).

Na slici 4 plavom oznakom detaljnije je prikazana poučna staza „Živa mrtvica“ te je crveno označena lokacija na kojoj je provedeno uzorkovanje vode.



Slika 4 Poučna staza „Živa mrtvica“ (plavo) i lokacija uzorkovanja vode (crveno) (izvor: MDV, 2020)

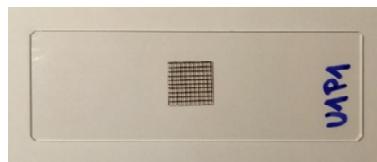


Slika 5 Uzorci (U1 i U2) prikupljene vode mrtvog rukavca Svetomartinske Mure



Priprema poduzoraka za mikroskopiranje

Svaki se prikupljeni uzorak vode od 50 mL (osnovni skup) prije poduzorkovanja polaganim okretanjem bočice za uzorkovanje promiješa 5 puta, čime se osigurava jednaka raspodjela organizama u uzorku. Iz svakog osnovnog skupa pomoću mikropipete (MicroPette Plus Autoclavable Pippetor, DLab) izdvaja se 25 μL (poduzorak) što predstavlja jednu kapljicu vode „žive mrtvice“. Poduzorak od 25 μL ispusti se na predmetno stakalce, doda se 10 μL 10 %-tne CMC (karboksimetil celuloze) koja povećava viskoznost medija što usporava kretanje organizama te se pomoću iglice kapljica promiješa i prekrije se prozirnom folijom površine 1 cm^2 na kojoj je otisnuta kvadratna rešetka (slika 6). Preparat svakog poduzorka mikroskopira se koristeći mikroskop (XSZ-0900) pod povećanjem 200 \times (povećanje okulara 10 \times , povećanje objektiva 20 \times), a za determinaciju organizama koristi se ključ (Corrington, 1972). Na opisani način za svaki se prikupljeni uzorak pripremi 10 poduzoraka.



Slika 6 Mikroskopski preparat

Procjena broja jedinki metodom probnih prostora (metoda kvadratnih rešetki)

Broj jedinki u svakom poduzorku određuje se mikroskopiranjem uz primjenu relativne metode probnih prostora (metoda kvadratnih rešetki). Analiziranjem poduzoraka vode rezultati postaju reprezentativniji i bliži stvarnom broju jedinki u osnovnom skupu. Za određivanje brojnosti koristi se kvadratna rešetka ukupne površine 1 cm^2 otisnuta na prozirnoj foliji. Kvadratna rešetka podijeljena je na 100 manjih kvadrata površine 1 mm^2 . Apsolutno prebrojavanje jedinki praživotinja napravi se u 10 nasumično raspoređenih kvadrata površine 1 mm^2 . Relativni broj jedinki praživotinja u poduzorku od 50 μL odredi se prema formuli (1) (Bendelja i Lukša, 2019).

$$(1) \quad T = N \times A = \frac{x}{10} \times \frac{100 \text{ mm}^2}{1 \text{ mm}^2}$$

T = procijenjen broj jedinki u 25 μL

N = ukupan broj izbrojenih jedinki (x) / broj kvadrata (10)

A = ukupna površina (1 $\text{cm}^2 = 100 \text{ mm}^2$) / površina jednog kvadrata (1 mm^2)

Određivanje indeksa sličnosti zajednica

Sličnost zajednica u prikupljenim uzorcima vode „žive mrtvice“ iskazuje se kvalitativnim i kvantitativnim indeksima sličnosti. Vrijednosti indeksa sličnosti protežu se u rasponu od 0 % do 100 %. 0 % označava da nema zajedničkih vrsta između zajednica, a 100 % da su zajednice potpuno jednake.

Kvalitativni indeks sličnosti zajednica

Kvalitativni indeksi sličnosti (Jaccardov i Sørensov) prema Razlog i Louvar (2016) pokazuju u kojoj su mjeri zajednice u prikupljenim uzorcima vode slične po kvalitativnom sastavu vrsta, na osnovi prisutnosti ili odsutnosti (ima ili nema) vrsta, ne uzimajući u obzir brojnost pojedinih vrsta. Sørensov indeks sličnosti daje veću težinu broju zajedničkih vrsta u oba uzorka u odnosu na Jaccardov indeks.

Tablica 1 Opis oznaka korištenih u određivanju Jaccardova i Sørensova indeksa sličnosti

		UZORAK 1	
		prisutnost	odsutnost
UZORAK 2	prisutnost	<i>a</i>	<i>b</i>
	odsutnost	<i>c</i>	<i>d</i>



Jaccardov indeks sličnosti određen je prema formuli (2).

$$(2) \quad S_j = 100 \times \left[\frac{a}{a + b + c} \right]$$

Sørensov indeks sličnosti određen je prema formuli (3).

$$(3) \quad S_s = 100 \times \left[\frac{2a}{2a + b + c} \right]$$

Kvantitativni indeks sličnosti zajednica

Kvantitativni indeks sličnosti (Bray-Curtisov) prema Razlog i Louvar (2016) pokazuje u kojoj su mjeri prikupljeni uzorci vode slični po kvalitativnom i po kvantitativnom sastavu vrsta, uzimajući u obzir prisutnost te brojnost jedinki u pojedinom uzorku. Bray-Curtisov indeks sličnosti određen je prema formuli (4).

$$(4) \quad S_{jk} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{\sum_{i=1}^p |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_{i=1}^p |y_{ij} + y_{ik}|} \right\}$$

y_{ij} – broj jedinki i u uzorku j (A)

y_{ik} – broj jedinki i u uzorku k (B)

Obrada podataka

Rezultati istraživanja obrađeni su u računalnom programu Microsoft Excel 2016 te su prikazani tablično. Kumulativni broj vrsta prikazan je kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Za procjenu sličnosti zajednica dvaju uzorka korišteni su izračuni kvalitativnih i kvantitativnih indeksa

REZULTATI

Rezultati prebrojavanja jedinki mikroskopskih organizama metodom kvadratnih rešetki u dva uzorka vode mrtvice Svetomartinske Mure od 50 mL prikazani su u tablici 2 i 3. Ukupan broj izbrojenih jedinki u svakom poduzorku 25 μ L označen je sa x , a relativni broj jedinki izračunat prema formuli (1) označen je kao T . Organizmi pronađeni u oba uzorka su *Mastigophora* (bičaši), *Sarcodinia* (sluzavci), *Ciliophora* (trepetljikaši), *Rotatoria* (kolnjaci), *Copepoda* (veslonošci), *Cladocera* (rašljoticalci), *Chlorophyta* (zelene alge). U uzorku 2 metodom kvadrata izbrojane su 2 jedinke *Vorticelle* koje nisu uočene u uzorku 1. Za svaki poduzorak određen je kumulativni broj vrsta prikazan u tablici 2. i 3.. Prosječan broj vrsta pronađenih u svakom poduzorku vode uzorka 1 iznosi $3,9 \pm 1,2$, a u poduzorku uzorka 2 iznosi $3,8 \pm 1,1$.

Tablica 3 Rezultati ukupnog broja izbrojenih jedinki (x) i izračunati relativni broj jedinki (T) u svakom poduzorku od 25 μ L koji čine osnovni skup jedinki uzorka 1

PODUFORKA	$x(Mastigophora)$	$T(Mastigophora)$	$x(Sarcodinia)$	$T(Sarcodinia)$	$x(Ciliophora)$	$T(Ciliophora)$	$x(Rotatoria)$	$T(Rotatoria)$	$x(Vorticella)$	$T(Vorticella)$	$x(Copepoda)$	$T(Copepoda)$	$x(Cladocera)$	$T(Cladocera)$	$x(Chlorophyta)$	$T(Chlorophyta)$	kumulativan broj vrsta	
UZORKA 1	P1	0	0	0	2	20	0	0	0	0	1	10	0	0	9	90	3	
	P2	1	10	0	0	2	20	2	20	0	0	0	0	0	13	130	4	
	P3	0	0	1	10	1	10	0	0	0	0	0	0	0	10	100	3	
	P4	1	10	0	0	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10	140	4	
	P5	0	0	2	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	120	2	
	P6	0	0	0	0	2	20	3	30	0	0	0	0	0	10	100	3	
	P7	0	0	2	20	3	30	1	10	0	0	1	10	0	0	11	110	5
	P8	0	0	2	20	1	10	1	10	0	0	0	0	1	10	9	90	5
	P9	1	10	1	10	2	20	2	20	0	0	1	10	0	0	12	120	6
	P10	0	0	1	10	0	0	2	20	2	20	0	0	0	0	15	150	4
	Σ		30		90		130		120		20		30		20		1150	



Tablica 3 Rezultati ukupnog broj izbrojenih jedinki (x) i izračunati relativni broj jedinki (T) u svakom poduzorku od 25 µL koji čine osnovni skup jedinki uzorka 2.

PODUZORAK	$x(Mastigophora)$	$T(Mastigophora)$	$x(Sarcodina)$	$T(Sarcodina)$	$x(Ciliophora)$	$T(Ciliophora)$	$x(Rotatoria)$	$T(Rotatoria)$	$x(Vorticella)$	$T(Vorticella)$	$x(Copepoda)$	$T(Copepoda)$	$x(Cladocera)$	$T(Cladocera)$	$x(Chlorophyta)$	$T(Chlorophyta)$	kumulativan broj vrsta	
UZORAK 2	P1	0	0	0	1	10	1	10	0	0	0	0	0	0	15	150	3	
	P2	0	0	2	20	1	10	1	10	0	0	1	10	0	0	9	90	5
	P3	0	0	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	140	2
	P4	0	0	2	20	0	0	1	10	0	0	0	0	0	0	15	150	3
	P5	0	0	0	0	2	20	2	20	0	0	0	0	0	0	10	100	3
	P6	1	10	1	10	1	10	0	0	0	0	0	0	1	10	11	110	5
	P7	0	0	2	20	1	10	1	10	0	0	0	0	1	10	13	130	5
	P8	0	0	1	10	3	30	0	0	0	0	0	0	0	0	15	150	3
	P9	0	0	0	0	1	10	1	10	0	0	0	0	0	0	10	100	3
	P10	1	10	1	10	1	10	0	0	0	0	1	10	0	0	9	90	5
Σ		20		100		110		70		0		20		20		1210		

Kvalitativni indeksi sličnosti zajednica (Jaccardov i Sørensov)

Na temelju podataka prikazanih u tablici 2 i 3 izvučeni su podatci potrebni za izračunavanje Jaccardova i Sørensova indeksa sličnosti (tablica 4). Sedam vrsta prisutno je u oba uzorka vode mrvvice (a). Sve vrste pronađene u uzorku 2 pronađene su i u uzorku 1 pa je broj vrsta prisutnih samo u uzorku 2 (b) jednak nuli. U uzorku 1 pronađena je vrsta *Vorticella* koja nije pronađena u uzorku 2 zbog čega je broj vrsta prisutnih samo u uzorku 1 (c) jednak jedan.

Tablica 4 Podaci za izračunavanje Jaccardova i Sørensova indeksa sličnosti zajednica uzorka 1 i uzorka 2

		UZORAK 1	
		prisutnost	odsutnost
UZORAK 2	prisutnost	$a = 7$	$b = 0$
	odsutnost	$c = 1$	$d = 0$

Izračunavanje Jaccardova indeksa sličnosti

Jaccardov indeks sličnosti zajednica organizma između dva uzorka vode mrvvice od 50 mL izračunat prema formuli (2) i na temelju podataka prikazanih u tablici 4 iznosi 87,5 %. Postupak izračunavanja Jaccardova indeksa sličnosti:

$$S_j = 100 \times \left[\frac{a}{a + b + c} \right]$$

$$S_j = 100 \times \left[\frac{7}{7 + 0 + 1} \right]$$

$$S_j = 87,5 \%$$

Izračunavanje Sørensova indeksa sličnosti

Sørensov indeks sličnosti zajednica organizama dva uzorka vode mrvvice od 50 mL izračunat prema formuli (3) i na temelju podataka prikazanih u tablici 4 iznosi 93,33 %. Postupak izračunavanja Sørensova indeksa sličnosti:

$$S_s = 100 \times \left[\frac{2a}{2a + b + c} \right]$$

$$S_s = 100 \times \left[\frac{2 \times 7}{2 \times 7 + 0 + 1} \right]$$

$$S_s = 93,33 \%$$

**Kvantitativni indeks sličnosti (Bray-Curtisov)**

Bray-Curtisov indeks sličnosti zajednica organizama dva uzorka vode mrtvice od 50 mL izračunat prema formuli (4) i na temelju podataka prikazanih u tablici 2 i 3 iznosi 94,26 %.

Postupak izračunavanja Bray-Curtisova indeksa sličnosti:

$$S_{jk} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{\sum_{i=1}^p |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_{i=1}^p |y_{ij} + y_{ik}|} \right\}$$

$$S_{jk} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{|30 - 20| + |90 - 100| + |130 - 110| + |120 - 70| + |20 - 0| + |30 - 20| + |20 - 20| + |1150 - 1210|}{|30 + 20| + |90 + 100| + |130 + 110| + |120 + 70| + |20 + 0| + |30 + 20| + |20 + 20| + |1150 + 1210|} \right\}$$

$$S_{jk} = 94,26 \%$$

RASPRAVA

Kvalitativni indeksi sličnosti u obzir uzimaju samo prisutnost ili odsutnost pojedine vrste u nekoj zajednici. Sørensov indeks sličnosti veću težinu daje broju zajedničkih vrsta između dviju zajednica zbog čega se njegova vrijednost razlikuje od Jaccardova indeksa. Sørensov indeks sličnosti zajednica mikroskopskih organizama dva uzorka vode mrtvice od 50 mL iznosi 93,33 %, a Jaccardov indeks sličnosti 87,5 %. Na temelju izračunatih kvalitativnih indeksa sličnosti potvrđena je prepostavka će 2 prikupljena uzorka imati sličan kvalitativni sastav mikroskopskih zajednica, što znači da su isti organizmi prisutni u jednom i u drugom uzorku. Međutim, kvalitativan indeks sličnosti nije 100 % jer je u uzorku 1 pronađena *Vorticella* koja nije bila prisutna u uzorku 2.

Najpouzdanije rezultate daje Bray-Curtisov indeks sličnosti, jer se kod kvalitativnih indeksa, osim prisutnosti ili odsutnosti pojedinih vrsta u dvije zajednice, u obzir uzima i broj jedinki u pojedinom uzorku. Prepostavka da će se razlikovati kvantitativni sastav uzorkovanih zajednica je opovrgнутa jer je prema Bray-Curtisovom indeksu sličnosti od 94,26 % utvrđen veliki postotak sličnosti u broju jedinki u pojedinom uzorku.

Nažalost ovo je tek prvo istraživanje provedeno na mrtvom rukavcu Svetomartinske Mure, te zbog toga nema podataka s čime bih ovo istraživanje mogao usporediti. No kako god, zbog samog vremena kada se uzorkovanje provelo (1. prosinca), ovakve analize vode obično se ne provode tokom zimskih mjeseci, zbog smanjenog broja organizama te zbog toga možemo reći da podaci iz prosinca nisu relevantni, baš zbog toga bi valjalo ponoviti istraživanje jednom mjesечно u periodu od travnja do rujna kada se rade kvantitativne i kvalitativne analize planktona kako bismo dobili vjerodostojnije podatke o stvarnom stanju planktonskih zajednica mrtvog rukavca Svetomartinske Mure.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja proučavanja mikrosvijeta kapljice vode mrtvog rukavca Svetomartinske Mure donijeti su zaključci:

- ➊ zajednice mikroorganizama između uzoraka imaju jednak kvalitativan sastav mikroskopskih zajednica
- ➋ zajednice mikroorganizama između uzoraka imaju jednak kvantitativan sastav mikroskopskih zajednica



LITERATURA

- Bendelja D., Lukša Ž., Vidović M. 2019. Kako prikupiti podatke na terenu, U Lukša Ž. (ur.), Biologija 1 – radna bilježnica za biologiju u prvom razredu gimnazija. Školska knjiga, Zagreb, str. 7.
- Corrington J.D. 1972. Protozo; Proste alge, U Nikolić G. (ur.), Istraživanja pomoću mikroskopa. Naučna knjiga, Beograd, str. 51-66.
- Habđija I., Primc Habđija B., Radanović I., Vidaković J., Kučinić M., Špoljar M., Matonićkin R., Miliša M. 2004. Carstvo: Protista. U Feletar D. (ur.), Protista-Protozoa i Metazoa-Invertebrata Funkcionalna građa i praktikum. Meridijani, Samobor, str. 61.
- MDV 2020. Svetomartinska Mura. Med dvemi vodami. <https://med-dvemi-vodami.info/sto-posjetiti/svetomartinska-mura/>, pristupljeno 11. 12. 2020.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2020, pristupljeno 11. 12. 2020. <<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=48601>>.
- Razlog A., Louvar B., Medved D., Prenković D., Tovarović I. 2016. Obilježja bioloških zajednica. U Viljevac J. (ur.), Biološki sustavi i matematika. Gimnazija Petra Preradovića, Virovitica, str. 90-99.
- SSTK 2003. Images. Shutterstock©. <https://www.shutterstock.com/>, pristupljeno 12. 12. 2020.
- Šafarek G. 2020. Mrtvi rukavci. Priroda Hrvatske. <http://prirodahrvatske.com/mrtvi-rukavci/>, pristupljeno 4. 12. 2020.
- Vrebčević B. 1996. Planktonski račići. U Kerovec M. (ur.), Priručnik za upoznavanje slatkovodnih račića veslonožaca (Copepoda, Cyclopidae) i rašljoticalaca (Cladocera) Hrvatske. Topograf, Velika Gorica, str. 5-6.

TKO JE VIDIO KRIJESNICE?

Bruno Trbušić, 8. razred

Vito Brozović, 7. razred

Maksim Stanković Šprajc, 6. razred

OŠ Dubovac, Karlovac

Mentor: Snježana Marković-Zoraja

SAŽETAK

Poticaj za istraživanje bilo je sudjelovanje učenika Osnovne škole Dubovac iz Karlovca u projektu „Krešo – krijesnica“ Agronomskog fakultet u Zagrebu. Projektom je predviđeno zabilježiti pojavu krijesnica u različitim dijelovima grada Karlovca u razdoblju od 1.6. do 15.7.2019. godine. Učenici su tijekom istraživanja promatrali moguću pojavu krijesnica u okolini svoje kuće svakoga dana. Uz svako opažanje krijesnica upisan je datum, bez određivanja njihove vrste i brojnosti. Budući da su neki učenici zamjetili krijesnice, a drugi nisu, nametnulo se istraživačko pitanje: „Koji su čimbenici okoliša utjecali na pojavu krijesnica“. Budući da je OŠ Dubovac uključena u međunarodni, znanstveno-obrazovni Program GLOBE, svakodnevno se mjeri temperatura zraka i količina oborina, što je potaknulo ideju da se pojava krijesnica usporedi s podacima o atmosferskim čimbenicima te da se odrede kategorije zemljišnog pokrova na mjestima promatrana. Postavljena je hipoteza: Krijesnice su vidjeli učenici u toplim i vrućim danima lipnja i srpnja bez oborina, koji stanuju u manje naseljenim ili manje osvijetljenim dijelovima Gradskih četvrti ili Mjesnim odborima, na lokacijama udaljenim od glavnih prometnica. Nakon analize podataka, hipoteza je potvrđena.

Ključne riječi: krijesnice; atmosferski čimbenici; kategorije zemljišnog pokrova

UVOD

Agronomski fakultet u Zagrebu pokrenuo je u svibnju 2019. godine projekt pod nazivom „Krešo – krijesnica“ u kojeg su se uključili učenici OŠ Dubovac (Orešković, 2019). Voditelji projekta s Agronomskog fakulteta upozoravaju da postoji problem smanjenja broja krijesnica, iako se kao vrsta ne nalazi u Crvenoj knjizi ugroženih vrsta u RH. Stoga je cilj projekta bio je promatrati pojavu krijesnica u Hrvatskoj od 1.6. do 15.7.2019. godine te voditeljima projekta na Agronomskom fakultetu javiti datume i lokacije opažanja.

U Hrvatskoj dolaze dvije vrste krijesnica: ivanska krijesnica (*Lampyris noctiluca* L.) i mala ivanska krijesnica (*Lampyris splendidula* L.) (Žapčić, 2019). Kod obje vrste, samo mužjaci imaju krila i lete (Garms i Borm, 1981).



Slika 1. *Lamprohiza splendidula* L.- mala ivanska krijesnica; mužjak (gore) i ženka (dolje)

Mala ivanska krijesnica je rasprostranjena po središnjoj i dijelu jugoistočne Europe (Garms i Borm, 1981). Mužjaci su tamnosmeđe do crne boje, a ženke su žućkastih i kremastih tonova. Veličine su oko 12 milimetara (slika 1) Mužjaci kontinuirano svijetle tijekom leta proizvodeći žutozelenu svjetlost.



Ženke također svijetle kontinuirano (dio tijela s točkama koje im se nalaze s bočnih strana), no to čine u travi jer imaju kratka i reducirana krila te im je let onemogućen (Orešković, 2019).

Ivanjska krijesnica nastanjena je u gotovo svim državama Europe s umjerenom klimom (Garms i Borm, 1981). Čokoladno-smeđe je boje. Mužjaci tijekom leta ne projiciraju svjetlost, a ženke, koje ne lete zbog nedostatka krila, svijetle kontinuirano (slika 2).

Svjetljenje im je okarakterizirano žuto-zelenom bojom te sporim pulsirajućim sjajem (Garms i Borm, 1981). Naziv „ivanjska“ pripisuje joj se zbog prvog ljetnog leta koji počinje u noći Svetog Ivana, između 23. i 24. lipnja (Orešković, 2019). Ponekad svoj prvi let započinju i ranije, a to ovisi o atmosferskim prilikama određene godine. Njihova svjetlost najčešće je vidljiva između 21 i 22 sata (PRR RH, 2019).



Slika 2. *Lampyris noctiluca* L.- ivanjska krijesnica; mužjak (lijevo) i ženka (desno)

Svjetlost krijesnica vidljiva je do udaljenosti od 40 metara. Svjetlost se stvara na posebnim membranama u zatku koje sadrže tvar luciferin (Orešković, 2019). Krijesnice su najefikasniji proizvođači svjetlosti jer se 98 % energije koja nastaje u procesu pretvara u svjetlost, a tek 2% u toplinu. Proizvodnja svjetla služi im za komunikaciju, pronalaženje partnera i parenje, a ponekad za upozoravanje predatora u svrhu zaštite (Orešković, 2019). Na Zemlji postoji oko 2000 vrsta krijesnica (PRR RH, 2019). U većini vrsta oba spola imaju svjetlosni organ, a kod manjeg broj vrsta je to karakteristika samo jednog spola. Krijesnice nisu aktivne u danima s oborinama (PRR RH, 2019).

Postavljeno je istraživačko pitanje „Koji su čimbenici okoliša utjecali na pojavu krijesnica?“ iz kojeg su izvedene sljedeće hipoteze:

- Pojava krijesnica uočena je u toplim i vrućim danima bez oborina.
- Pojavu krijesnica mogli su uočiti učenici koji stanuju u manje naseljenim ili manje osvijetljenim dijelovima grada.
- Krijesnice se pojavljuju na lokacijama udaljenim od glavnih prometnica.

METODE

Početkom školske godine 2019./2020. analizirani su prikupljeni podatci o lokacijama gdje su krijesnice viđene. S obzirom da su neki od uključenih učenika uočili krijesnice na svojoj adresi stanovanja, a drugi nisu, takav je rezultat otvorio pitanje o uzroku tih razlika. Odlučeno je da će se istražiti uzroci razlika u pojavljivanju krijesnica tijekom razdoblja od 1.6.-15.7.2019. na području grada Karlovca.

Učenici OŠ Dubovac su u svibnju 2019. obaviješteni o početku projekta „Krešo – krijesnica“ i za sudjelovanje se prijavio veliki broj njih. Za potrebe projekta trebalo je promatrati krijesnice u razdoblju od 1.6.-15.7.2019. godine. Učenici su bilježili datum pojave krijesnica, uz svoju adresu stanovanja i te su podatke prijavljivali putem platforme Edmodo.



Ostvarivanje Programa GLOBE program u OŠ Dubovac obuhvaća atmosferska, pedološka, biološka i hidrološka mjerena koja prema GLOBE protokolima redovito provodi GLOBE grupa. Meteorološka se mjerena obavljaju svakoga dana pa škola raspolaže s impresivnom bazom podataka. Također se već niz godina u svibnju obavljaju biološka opažanja i mjerena, koja uključuju i određivanje kategorija zemljišnog pokrova na istraživačkom području škole. Kategorija pokrova (GLOBE, 1998) određuje se prema Modificiranoj UNESCO-voj klasifikaciji pokrova (MUC). Tijekom obavljanja biometrijskih mjerena u svibnju 2019., odlučeno je da će se odrediti MUC kategorije pokrova na lokacijama gdje su krijesnice vidjene (GLOBE, 1998).

Početkom školske godine 2019./2020., analizirani su svi podaci prikupljeni u projektu „Krešo-krijesnica“ i podaci GLOBE mjerena. GLOBE skupina učenika odlučila je analizirati podatke i razvrstati lokacije (adrese učenika) gdje su krijesnice zabilježene. Da bi u tome uspjeli, sljedeći je korak bio utvrđivanje raspodjele Grada na Gradske četvrti (GČ) i Mjesne odbore (MO) (Karlovac, 2021).

Nakon pridruživanja lokacija (adresa učenika) određenom MO ili GČ, izrađena je tablica sa svim adresama na kojima su krijesnice zabilježene (za svaki MO i GČ). Svakoj je adresi pridružen broj opažanja i MUC kategorija pokrova. Za lokacije na kojima su uočene krijesnice utvrđene su kategorije pokrova MUC 1123 (listopadna šuma) i MUC 9 (urbanizirano područje).

Na internetskim stranicama Grada Karlovca pronađen je ukupan broj stanovnika po GČ i MO.⁽⁷⁾ U posebnu tablicu, upisana je učestalost pojave krijesnica po GČ i MO, čemu je pridružen broj stanovnika. Za svaku je GČ i MO izračunat udio pojedine MUC kategorije pokrova. Uspoređujući internetske podatke i geografske karte s adresama promatrača, određen je omjer urbaniziranog područja i zelenih površina u svakom MO i GČ. Učestalost opažanja krijesnica upisana je na geografsku kartu na kojoj su označena područja GČ i MO. Na takvom je prikazu jasno uočena ovisnost broja opažanja krijesnica o udjelu zelenih površina u GČ i MO. Da bi se zorno prikazali udjeli zelenih površina u svakom GČ i MO, preuzete su slike GČ i MO s Google karte.

Pretpostavljeno je da su krijesnice vidljive u toplim i vrućim danima pa je trebalo usporediti maksimalnu temperaturu zraka (Tmax) i količinu oborine s datumima pojave krijesnica u razdoblju od 1.6.-15.7.2019. godine. Toplim danom se smatra kad je maksimalna dnevna temperatura $T(\text{max}) \geq 25^{\circ}\text{C}$, a vrući dan je dan kad je $T(\text{max}) \geq 30^{\circ}\text{C}$ (GLOBE, 1998).

Na GLOBE atmosferskoj postaji OŠ Dubovac, redovito se mjeri trenutna, maksimalna i minimalna temperaturu zraka kao i količina oborine. Radi provjere točnosti atmosferskih mjerena OŠ Dubovac podaci su uspoređeni s podatcima DHMZ-a (maksimalna temperatura zraka i količina oborine po datumima). Usporedba podataka pokazala je da u razdoblju od 1.6. do 15.7.2019. nema većih odstupanja. U promatranom razdoblju broj dana s oborinom $>1\text{mm}$, jednak je u podatcima OŠ Dubovac i DHMZ-a. Broj vrućih dana prema podatcima DHMZ-a je 21, a u mjerjenjima OŠ Dubovac 18. Broj toplih dana prema podatcima DHMZ-a je 19, a u mjerjenjima OŠ Dubovac 21. Zbog razlika u vrijednostima maksimalne temperature konzultirani su profesionalni meteorolozi iz DHMZ. Prema njihovim preporukama, za usporedbu atmosferskih čimbenika s pojmom krijesnica, korišteni su podatci GLOBE atmosferske postaje OŠ Dubovac jer je Meteorološka postaja Karlovac udaljena više od dva kilometra od OŠ Dubovac. Takav je pristup preporučen jer se istraživačko područje prostire u dijelu grada u kojem je OŠ Dubovac.



REZULTATI

U tablici 1. navedene su adrese stanovanja učenika i GČ ili MO kojoj pripada adresa stanovanja učenika koji su promatrali okoliš u razdoblju od 1.6. do 15.7.2019. godine. Uz svaku lokaciju opažanja (adresa učenika) određena je MUC kategorija pokrova i broj dana kad su opažene krijesnice.

Tablica 1. Broj pojava krijesnica na određenoj lokaciji (adresi učenika) i MUC na lokaciji zapažanja

Gradska četvrt/Mjesni odbor	učenik/ adresa stanovanja	broj dana u kojima su opažene krijesnice	MUC9	MUC1123
GČ Dubovac	R.Boškovića 9	1	+	-
	P.Kružića 22	2	+	-
	Drežnik 25	1	+	-
	F.Supila 9	1	+	-
	H.Turze 1	1	+	-
GČ Luščić	Luščić 41 d	0	-	-
	Luščić 70	2	-	+
	Bohinjska 12	0	-	-
	Jamadolska 2	5	-	+
	Skadarska 12	0	-	-
GČ Novi centar	Krležina 9	0	-	-
	Lj.Šestića 4	0	-	-
	M.Držića 11	0	-	-
	M. Krleže 1d	0	-	-
	M.Krleže 8	0	-	-
MO Velika Jelsa	Brdo 3	2	+	-
	Brdo 17	2	+	-
	Donja Jelsa 184	1	+	-
	Perinčići 11	5	-	+
	Perinčići 16	5	-	+
MO Borlin	D.Grčića 20	1	+	-
	Tičarnica 9	5	-	+
	Borlin 65	2	-	+
	Mirka Seljana 40	2	+	-
	Stjepana Seljana 55	0	-	-
MO Mala Jelsa	Mala Jelsa 43	3	+	-
	Mala Jelsa 11	2	+	-
	Mala Jelsa 35	2	-	+
	Mala Jelsa 16	3	-	+
	Mala Jelsa 2b	0	-	-
MO Gornje Stative	Gornje Stative 24	2	+	-
	Gornje Stative 40	2	+	-
	Donje Stative 59	2	-	+
	Donje Stative 56	2	-	+
	Netretićko Bukovlje 9	4	-	+
MO Zadobarje	Tomašnica 19	4	-	+
	Zadobarje 110	4	+	-
	Zadobarje 15	4	+	-
	Grdun 4	4	-	+
MO Zagrad- Vučjak	Vučjak 12	1	+	-
	Vučjak 59	2	+	-
	Zagrad 38	2	+	-
	Uzdihovac 1	5	-	+
	Skupica 7	5	-	+

Analiza podataka iz tablice 1. pokazala je da učenici u gradske četvrti Novi centar nisu vidjeli krijesnice. Više zabilježenih pojava krijesnica bilo je u Mjesnim odborima, nego u Gradskim četvrtima grada



Karlovca. U Mjesnim odborima nema većih stambenih zgrada, trgovačkih centara i velikih osvijetljenih javnih površina. Osvijetljeni su privatni posjedi jer ljudi stanuju u vlastitim kućama, izgrađene su lokalne ceste, velikih prometnica nema ili prolaze rubnim područjima MO (npr. cesta A6).

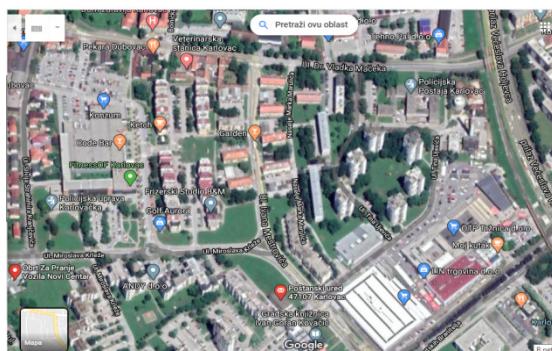
U tablici 2. je za svaki MO i GČ prikazan broj stanovnika i ukupan broj opažanja. Od ukupnog broja opažanja dio je zabilježen na pokrovu MUC klasifikacije 1123, a dio na MUC9 što je prikazano postotcima.

Tablica 2. Broj stanovnika u GČ i MO, udio MUC 1123 i MUC 9 od ukupnog broja opažanja krijesnica

Gradska četvrt/Mjesni odbor	Broj stanovnika	Ukupan broj opažanja krijesnica	MUC 1123/%	MUC 9/%
GČ Dubovac	2237	6	0	100
GČ Lušćić	3890	7	100	0
GČ Novi centar	5774	0	-	-
MO Velika Jelsa	1879	15	66,6	33,3
MO Borlin	1432	10	70	30
MO Mala Jelsa	311	10	50	50
MO Gornje Stative	385	12	75	25
MO Zadobanje	368	16	50	50
MO Zagrad- Vučjak	873	15	53	47

Uspoređena je brojnost pojave krijesnica po Gradskim četvrtima i Mjesnim odborima u kojima stanuju učenici OŠ Dubovac s brojem stanovnika.

Gradsko četvrt Novi centar ima najveći broj stanovnika. Stanovnici ove četvrti žive u velikim stambenim zgradama, a u četvrti je nekoliko trgovacačkih centara i javnih osvijetljenih parkova (slika 3). Učenici u Novom centru nisu vidjeli krijesnice. U MO Borlin najviše je opažanja krijesnica na MUC 1123 jer velik dio MO zauzima šuma Kozjača (slika 4).



Slika 3. GČ Novi centar



Slika 4. MO Borlin

U GČ Lušćić učenici su vidjeli krijesnice jer dijelovi četvrti obuhvaćaju šumu Kozjaču (slika 6) i krijesnice su zabilježene u blizini šume. U GČ Dubovac učenici su vidjeli krijesnice u stambenom području (MUC9), ali su njihove adrese stanovanja u dijelu GČ koji je dalje od glavnih prometnica, a bliže je šumi i groblju Dubovac (slika 7). U MO Velika Jelsa i Gornje Stative (slike 9 i 10) više je zabilježenih pojava krijesnica u šumskom području. Rubnim dijelovima ovih MO gdje je i veća naseljenost prolazi cesta D1 i A1.



Slika 5. MO Zadobarje



Slika 6. GČ Luščić



Slika 7. GČ Dubovac



Slika 8. MO Mala Jelsa



Slika 9. MO Velika Jelsa



Slika 10. MO Gornje Stative

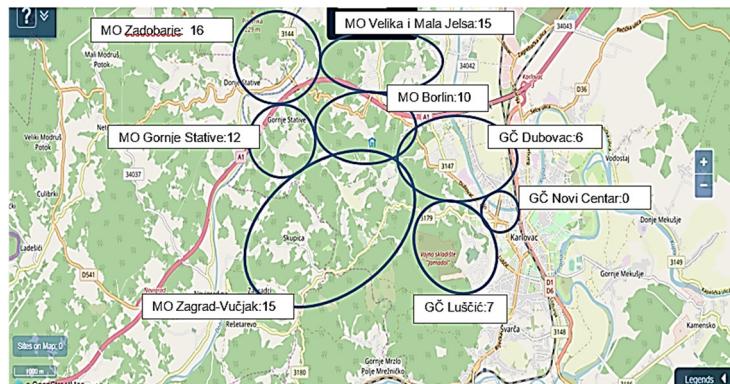


Slika 11. MO Zagrad – Vučjak

U MO Zadobarje, Zagrad- Vučjak i Mala Jelsa (slike 5, 8 i 11) je naseljenost najmanja, izgrađene su lokalne ceste, a stanovnici žive u privatnim kućama uz šumsko ili poljoprivredno zemljишte. U ovim MO je približno jednak broj opažanja na MUC 1123 i MUC 9.

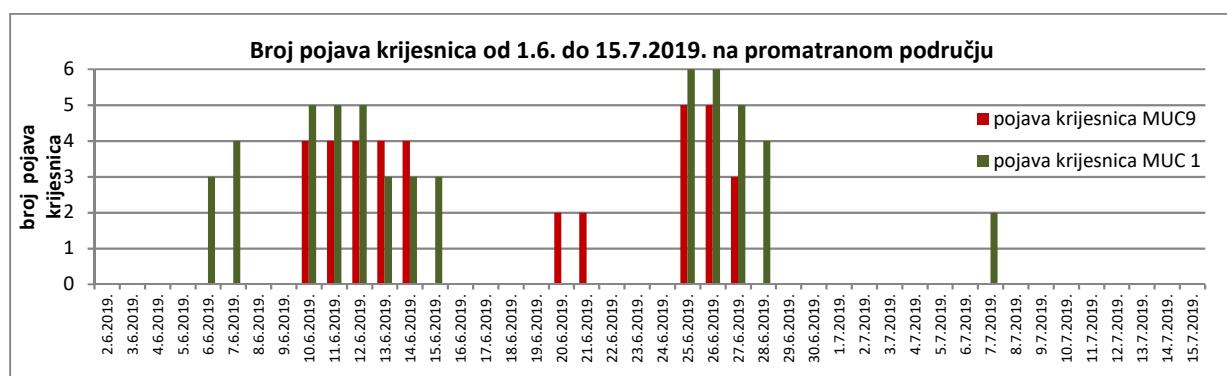


Na slici 12. prikazana je veličina i geografski položaj GČ i MO u kojima stanuju učenici. Za svaki MO i GČ naveden je ukupan broj opažanja krijesnica tijekom istraživanja. U manje izgrađenim i manje naseljenim GČ i MO ukupan broj opažanja krijesnica bio je veći.



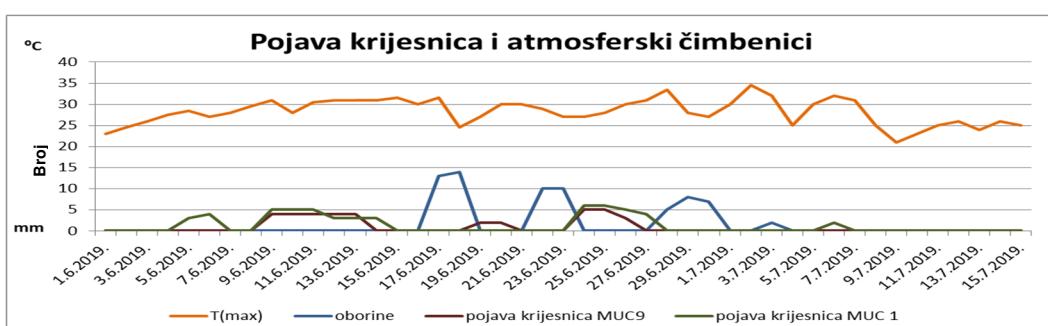
Slika 12. Ukupan broj opažanja krijesnica u MO i GČ Karlovca prema podatcima učenika OŠ Dubovac u razdoblju od 1.6. do 15.7.2019. godine

Slika 1. grafički prikazuje ukupan broj opažanja krijesnica na pokrovu kategorije MUC1123 i na MUC 9 u danima od 1.6. do 15.7.2019. godine. U razdoblju praćenja uvijek je veći broj opažanja bio na pokrovu MUC1123, osim u danima od 20.6. do 22.6.2019. kad su zabilježene samo na pokrovu MUC9.



Slika 1. Ukupan broj opažanja krijesnica po danima u razdoblju od 1.6. do 15.7.2019. godine na pokrovima MUC1123 i MUC9

Analizirani su atmosferski čimbenici u razdoblju praćenja i opažanja krijesnica. Na slici 2. prikazana je maksimalna temperatura zraka, dnevne količine oborine i ukupan broj opažanja krijesnica u svakom danu na pokrovima MUC1123 i MUC 9. U danima s oborinom nije bilo opažanja krijesnica. Svi danii u kojima su zabilježene krijesnice bili su topli ili vrući dani.



Slika 2. Maksimalna temperatura zraka, ukupan broj opažanja krijesnica u danu na pokrovima MUC9 i MUC1123 i dnevna količina oborina u periodu od 1.6. do 15.7.2019.



RASPRAVA

Postavljena hipoteza je potvrđena. Učenici koji su vidjeli krijesnice stanuju u manje naseljenim ili manje osvijetljenim dijelovima gradskih četvrti ili mjesnim odborima, na adresi koja je udaljena od glavnih i velikih prometnica, a opazili su ih i zabilježili u toplim ili vrućim danima bez oborina. U Gradskim četvrtima s većom naseljenosti i u blizini velikih prometnica i trgovačkih centara ima više osvjetljenih javnih i privatnih površina što je moglo utjecati na izostanak ili smanjeno pojavljivanje krijesnica (Žapčić, 2019; PRR RH, 2019; Orešković Ž. 2019).

U projektu su sudjelovali učenici koji pohađaju OŠ Dubovac pa su mjesta promatranja samo gradske četvrti Grada Karlovca u kojima stanuju učenici OŠ Dubovac: GČ Dubovac, GČ Lušćić, GČ Novi centar, MO Borlin, MO Velika Jelsa, MO Mala Jelsa, MO Gornje Stative, MO Zadobarje, MO Zagrad – Vučjak.

Usporedba pojave krijesnica 2019. s prethodnim godinama nije mogla biti napravljena zbog nedostatka podataka. Od voditelja projekta s Agronomskog fakulteta dobivena je informacija da ne postoje istraživanja od prošlih godina na razini cijele države. Bilo bi značajno sljedećih godina ponavljati promatranja i pratiti moguće promjene.

Uzrok sve manjem broju krijesnica je djelovanje čovjeka na prirodu kroz urbanizaciju i svjetlosno onečišćenje (Žapčić, 2019). U područjima s intenzivnom poljoprivredom, na brojnost krijesnica negativno utječe prskanje biljnih kultura pesticidima, što se smatra drugim razlogom smanjenja njihove brojnosti (PRR RH, 2019). S obzirom da krijesnice koriste svjetlosne organe prilikom međusobne komunikacije, umjetni izvori svjetlosti (svjetlo automobila, ulična rasvjeta, svjetlo iz domova i izloga), uvelike ometaju njihovu komunikaciju, koja im je ključna za pronalaženje partnera za parenje (Žapčić, 2019). Prolazak automobilskih svjetla pored lokacije na kojoj se nalaze krijesnice može poremetiti njihovu sinkronizaciju i na nekoliko minuta. Konstantno ometanje umjetnim svjetlom otežava krijesnicama komunikaciju i umanjuje šansu za parenje što može u budućnosti dovesti do značajnog smanjenja brojnosti krijesnica. Stoga se može zaključiti da je svjetlosno onečišćenje jedan od razloga smanjenja broja krijesnica (PRR RH, 2019), što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja.

Za grad Karlovac, krijesnice su osobito važne kao simbol blagdana Ivana. Svake se godine tradicionalno obilježava Ivanjski kries, kao dio turističke ponude kojim počinju Dani Karlovca pa bi u tome i ivanjska krijesnica trebala naći svoje mjesto.

ZAKLJUČCI

Školski projekt OŠ Dubovac proveden je s ciljem upoznavanja učenika u školi, roditelja i građana kako krijesnica u gradu ima sve manje jer im smeta urbana rasvjeta te da bi trebalo sačuvati prostore u gradu i okolici u kojima još uvijek ima uvjeta za njihov opstanak. Krijesnice su primijećene u manje naseljenim ili manje osvijetljenim dijelovima gradskih četvrti, na adresama koje su udaljene od glavnih i velikih prometnica tijekom toplih ili vrućih dana bez oborina.

LITERATURA

Garms, H., Borm L., 1981. Fauna Europe, Mladinska knjiga, Ljubljana.

GLOBE 1998. Upute za provedbu. <http://globe.hr/upute-za-provedbu/> pristupljeno 4.2.2020.

Karlovac 2021. Karlovac – grad susreta, <https://www.karlovac.hr/> pristupljeno 14.2.2021.

Karte 2021. Karlovac,

<https://www.google.hr/maps/place/Karlovac/@45.492364,15.4194905,11z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x47642331b9df2dc1:0x400ad50862bbb70!8m2!3d45.4928973!4d15.5552683> pristupljeno 24.3.2021.



Orešković Ž. 2019. Jeste li na društvenim mrežama primijetili profil Krešo Krijesnica? S Agronomije tako pokušavaju spasiti svjetleće bubice. Telegram, <https://www.telegram.hr/zivot/jeste-li-na-drustvenim-mrezama-primijetili-profil-kreso-krijesnica-s-agronomije-tako-pokusavaju-spasiti-svjetlece-bubice/> pristupljeno 4.2.2020.

PRR RH 2019. Podržite projekt: "Krešo Krijesnica – vratimo svjetla našeg djetinjstva", [Podržite projekt: "Krešo Krijesnica – vratimo svjetla našeg djetinjstva" | Uprava za potpore poljoprivredi i ruralnom razvoju \(ruralnirazvoj.hr\)](#) pristupljeno 4.2.2020.

Žapčić A. 2019. Zašto se ugasila čarolija krijesnica? Budite čuvari svjetla našeg djetinjstva! RTL.hr, <https://www rtl hr/vijesti-hr/novosti/hrvatska/3524387/zasto-se-ugasila-carolija-krijesnica-budite-cuvari-svjetla-naseg-djetinjstva/> pristupljeno 4.2.2020.